การผลิตสารสีโดยเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือย และการประยุกต์ใช้ในกุนเชียง

PIGMENT PRODUCTION BY *Monascus purpureus* TISTR 3090 ON ADLAY AND APPLICATION IN A CHINESE STYLE SAUSAGE

กมลวรรณ ตันโสภณ

KAMOLWAN TUNSOPON

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2555

KMITL-2012-SC-M 020-026

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตสารสีโดยเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือย และการประยุกต์ใช้ในกุนเชียง

PIGMENT PRODUCTION BY *MONASCUS PURPUREUS* TISTR 3090 ON ADLAY AND APPLICATION IN A CHINESE STYLE SAUSAGE

กมลวรรณ ตันโสภณ

KAMOLWAN TUNSOPON

b.....
i.....

เลขหมู่.....
ลงทะเบียน 123006
วัน,เดือน,ปี 10 ต.ค. 2555

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2555

KMITL-2012-SC-M-020-026

PIGMENT PRODUCTION BY *MONASCUS PURPUREUS* TISTR 3090 ON ADLAY AND APPLICATION IN A CHINESE STYLE SAUSAGE

KAMOLWAN TUNSOPON

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2012
KMITL-2012-SC-M-020-026

COPYRIGHT 2012

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การผลิตสารสีโดยเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือย และการประยุกต์ใช้ในกุนเชียง
Pigment Production by *Monascus purpureus* TISTR 3090 on Adlay and Application in a Chinese Style Sausage

นักศึกษา นางสาวกมลวรรณ ตันโสภณ
รหัสประจำตัว 50068352
ปริญญา วิทยาศาตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
รศ.ดร.นวลพรรณ	ณ ระนอง	
รศ.ดร.สุรีย์	นานาสมบัติ	
ดร.กรองจันทร์	รัตนประดิษฐ์	
รศ.ดวงใจ	โอชัยกุล	

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คณะวิทยาศาสตร์
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ 22 พฤษภาคม พ.ศ. 2555 เวลา 13.30 – 16.00 น.
สถานที่สอบ ณ ห้อง 422 ชั้น 4 อาคารจุฬาภรณวลัยลักษณ์ 1

คณะวิทยาศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
วันที่ 27 **เดือน** มิถุนายน **พ.ศ.** 55

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตสารสีโดยเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยและการประยุกต์ใช้ในกุนเชียง
นักศึกษา	นางสาวกมลวรรณ ตันโสภณ
รหัสประจำตัว	50068352
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2555
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการเจริญและการผลิตสารสีของเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือย (*Coix lacryma-jobi*) ซึ่งเป็นวัตถุดิบอีกชนิดหนึ่งที่เชื้อชนิดนี้สามารถเจริญและสร้างสารสีได้นอกเหนือจากข้าว ข้าวโพด มันเทศ และ มันสำปะหลัง เป็นต้น ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม และ ระยะเวลาการเจริญในการผลิตสารสีของเชื้อชนิดนี้ในสภาวะอาหารแข็งออกแบบการทดลองแบบ Central composite design (CCD) และ วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี Response surface method (RSM) พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารสี คือ ความชื้นร้อยละ 58-63 พีเอช 5.95-6.25 อุณหภูมิ 28-31 องศาเซลเซียส โดยเชื้อจะผลิตสารสีได้สูงสุด 105 OD ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในวันที่ 10 ของการเจริญ จากนั้นนำลูกเดือยที่หมักได้ทดแทนสารไนไตรท์บางส่วนในผลิตภัณฑ์กุนเชียง โดยทำการศึกษากุนเชียงทั้งหมด 7 สูตร เก็บรักษาในถุงพลาสติกโพลิโพไพลีน ปิดปากถุงให้สนิท เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่า ตลอดอายุการเก็บรักษา ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น a_w ค่า L* a* b* ลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา โดยกุนเชียงสูตรที่ 5 (เติมลูกเดือยร้อยละ 0.2) และ สูตรที่ 6 เติมลูกเดือยร้อยละ 0.2 โซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และบีเอชทีร้อยละ 0.008 ลดลงใกล้เคียงกับสูตรที่ 1 (เติมไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม) กุนเชียงสูตรที่ใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก คือ สูตรที่ 2 (เติมลูกเดือยร้อยละ 0.2) 5 และ 6 มีค่า a* สูงกว่าสูตรที่ 1 และ สูตรอื่นตลอดอายุการเก็บรักษา สำหรับค่า TBARS กุนเชียงทุกสูตรมีค่า TBARS เพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา สูตรที่ 5 และ 6 ค่า TBARS เพิ่มขึ้นน้อยกว่าสูตรที่ 1 ที่เป็นสูตรมาตรฐาน ในวันที่ 21 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ยกเว้นสูตรที่ 7 สำหรับจำนวนยีสต์และรา กุนเชียงสูตรที่ 1 5 และ 6 มีปริมาณยีสต์และราน้อยกว่ากุนเชียงสูตรอื่น และ สามารถเก็บรักษาได้ถึง 21 วัน กุนเชียงสูตรอื่นๆ เก็บได้ไม่เกิน 14 วัน และ จากการ

ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส พบว่าผู้บริโภคให้คะแนนทางด้านสี กลิ่น รส เนื้อสัมผัสของกุนเชียง สูตรที่ 5 และ 6 ใกล้เคียงกับกุนเชียงสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรมาตรฐาน

คำสำคัญ : การผลิตสารสี ลูกเดือย *Monascus purpureus*

Thesis Title	Pigment Production by *Monascus purpureus* TISTR 3090 on Adlay and Application in a Chinese Style Sausage
Student	Miss Kamolwan Tunsopon
Student ID	50068352
Degree	Master of Science
Program	Biotechnology
Year	2012
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul

ABSTRACT

This research studied optimal conditions for pigment production from *Monascus purpureus* TISTR 3090 on adlay. Like raw material such as rice, corn and sweet potato, adlay is another raw material that *M. purpureus* can grow and produce pigment. In the study, optimal condition on adlay solid state fermentation was carried out using Central composite design (CCD) for experimental design. The results were analyzed by Response surface method (RSM). The factors effecting the pigment production were 58-63 % moisture, pH at 5.95-6.75 and temperature at 28-31 $^{\circ}$C . In these condition *M. purpureus* could produce maximum pigment with 105 OD unit/gram dry weight at 10 days of fermentation. Then, fermented adlay was used for partial replacement of nitrite in a Chinese style sausage. Seven formulations of the Chinese style sausage samples were studied. All Chinese style sausage samples were packed in the polypropylene plastic bag and stored at 4 $^{\circ}$C for 28 days. After 28 days of storage, protein, fat and moisture as well as the color values L* and b* of the Chinese style sausage samples decreased throughout the 28-day storage. All of these value in the sausage samples of formulation 5 (added with 0.2% adlay and 20 ppm nitrite) and 6 formulation (added with 0.2% adlay, 20 ppm nitrite, 0.02% sodium benzoate and 0.008% BHT) decreased almost the same as those of formulation 1 (added with 125 ppm nitrite). The a* color values in the samples of formulation 2 (added with 0.2% adlay), 5 and 6 were higher than those of the formulation 1. TBARS values increased throughout the 28 days of storage. The TBARS values of formulation 5 and 6 samples were less than those of formulation 1 samples after 28 days of storage. At day 21 of storage, total plate counts in all formulations of sausage samples were in acceptable range of the

community product standard, except for formulation 7 samples. The Chinese style sausage samples of formulation 1, 5 and 6 had lower yeast and mold count than those of other formulation samples. They can be stored upto 21 days but other formulation samples can not be stored more than 14 days. The results of sensory evaluation showed that the liking scores of color, flavor and texture of the sausage sample formulation 5 and 6 were almost the same as those of formulation 1 (added 125 ppm).

Key word: Pigment production, Adlay, *Monascus purpureus.*

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน ขอขอบพระคุณ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้การช่วยเหลือ คำแนะนำปรึกษาและให้กำลังใจมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ และ ดร. กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่สละเวลาอันมีค่า เพื่อเป็นกรรมการคุมสอบวิทยานิพนธ์และให้คำปรึกษาแนะนำ ตรวจสอบชี้แนะแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ธุรการเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการในสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยให้ความช่วยเหลืออนุเคราะห์ในเรื่องสารเคมี และสถานที่

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ในสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ ตักเตือนและคอยให้กำลังใจเสมอมาและขอขอบคุณ คุณรัฐรุจน์ นิธิภูวภัสสรณ์ ที่คอยให้กำลังใจและอยู่เคียงข้าง

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อแสงศักดิ์ ตันโสภณและคุณแม่รัตวรรณ ตันโสภณ ที่ให้การเลี้ยงดูอบรม สั่งสอน ให้การศึกษา รวมถึงคอยให้กำลังใจอยู่เคียงข้างมาโดยตลอด ขอขอบพระคุณ ครูอาจารย์ทุกท่าน ที่เคยให้การอบรมสั่งสอนข้าพเจ้าจนมีความสามารถและความรู้จนกระทั่งทำให้ข้าพเจ้าสามารถทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จ

คุณค่าและประโยชน์อันใดที่พึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่คุณพ่อแสงศักดิ์ ตันโสภณ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

กมลวรรณ ตันโสภณ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

สารบัญ.....VI

สารบัญตาราง.....X

สารบัญรูป.....XIII

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 วัตถุประสงค์.....3

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3

บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ.....4

2.1 ประวัติและความเป็นมาของข้าวแดง.....4

2.2 การผลิตข้าวแดง.....5

2.3 เดือย.....6

2.3.1 แบ่งตามการใช้ประโยชน์.....7

2.3.2 แบ่งตามคุณสมบัติของแป้งเดือย.....8

2.3.3 องค์ประกอบของเดือย.....9

2.4 ประวัติและความสำคัญของเชื้อ *Monascus* sp. 10

2.4.1 สายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส.....12

2.4.2 กระบวนการสังเคราะห์สารสีของเชื้อราโมแนสคัส.....14

2.4.3 ความปลอดภัยของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส.....15

2.4.4 ความคงตัวของสีโมแนสคัส.....16

2.5 การออกแบบการทดลอง.....17

2.5.1 วิธีการและการออกแบบพื้นผิวตอบสนอง

(Response Surface Method and design, RSM).....17

2.5.1.1 การวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD).....17

2.5.1.2 การคำนวณผลการทดลองโดยใช้สมการ regression.....24

2.5.1.3 แสดงผลการทดลองแบบ RSM โดยให้โปรแกรม Statistica.....24

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6 ผลิตภัณฑ์กุนเชียง..... 25

2.7 บทบาทของไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์..... 26

2.6.1 บทบาทของเกลือไนไตรท์และไนเตรท ต่อการเกิดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อ..... 26

2.6.2 อันตรายของไนไตรท์และข้อจำกัดของปริมาณการใช้..... 29

2.8 สารกันบูดอาหาร..... 29

2.8.1 กรดเบนโซอิก(Benzoic acid, C_6H_5COOH).....30

2.9 สารลดความหืน.....31

2.91 บีเอชที 31

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....32

ทที่ 3 การวิจัยและการดำเนินการ..... 35

3.1 เชื้อจุลินทรีย์..... 35

3.2 วัตถุดิบ..... 35

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดอลอง.....35

3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....35

3.5 วิธีการทดลอง.....37

3.5.1 การเตรียมหัวเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090..... 7

3.5.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อ

M. purpureus TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็ง.....37

3.5.3 ศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อ

M. purpureus TISTR 3090 บนลูกเดือย ในสภาวะอาหารแข็ง.....40

3.5.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารอาหารในลูกเดือยที่ได้จากการหมัก

ในสภาวะที่เหมาะสม..... 41

3.5.5 การใช้ผลิตภัณฑ์ลูกเดือยที่ได้จากการหมักทดแทนสารไนไตรท์บางส่วน

ในกุนเชียง.....43

3.5.5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหาร..... 44

3.5.5.2 ปริมาณความชื้นและค่า Water activity (a_w).....45

3.5.5.3 การวัดค่าสี.....46

3.5.5.4 ค่า Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS).....46

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5.5.5 การหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด..... 47
3.5.5.6 การหาปริมาณยีสต์และรา.....47
3.5.5.7 การทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส..... 47
3.5.5.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....47

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็งเป็นเวลา 25 วัน..... 48
4.2 ศึกษาการเจริญและการผลิตสารสีของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็ง..... 52
4.3 วิเคราะห์องค์ประกอบสารอาหารในลูกเดือยที่ได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสม..... 55
4.3.1 ปริมาณโปรตีน.....55
4.3.2 ปริมาณไขมัน.....55
4.3.3 ปริมาณเถ้า.....55
4.3.4 ค่าปริมาณความชื้น.....55
4.3.5 ปริมาณแคลเซียม ฟอสฟอรัส.....56
4.3.6 ปริมาณวิตามิน บี1 บี2 และอะฟลาทอกซิน 56
4.4 ศึกษาอายุการเก็บรักษาของกุนเชียงที่ได้.....56
4.4.1 ปริมาณโปรตีน.....58
4.4.2 ปริมาณไขมัน.....60
4.4.3 ปริมาณเถ้า.....61
4.4.4 ความชื้นและค่า water activity 63
4.4.5 การวัดค่าสี.....67
4.4.5.1 ค่า L*..... 67
4.4.5.2 ค่า a*..... 69

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.4.5.3 ค่า b* 71
4.4.6 ค่า TBARS 72
4.4.7 จุลินทรีย์ทั้งหมด 74
4.4.8. ยีสต์และรา 77
4.4.9 การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส
4.4.9.1 สี 79
4.4.9.2 เนื้อสัมผัส 80
4.4.9.3 ความแน่นเนื้อ 81
4.4.9.4 ความชุ่มฉ่ำ 82
4.4.9.5 ความสม่ำเสมอ 83
4.4.9.6 กลิ่นรส 85
4.4.9.7 การยอมรับโดยรวม 86
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ 87
เอกสารอ้างอิง 89
ภาคผนวก ก 96
ภาคผนวก ข 97
ภาคผนวก ค 104
ภาคผนวก ง 105

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณแร่ธาตุและวิตามินในข้าวสายพันธุ์ขาวมะลิ และข้าวแดงที่ผลิตได้จากข้าวพันธุ์เดียวกัน	6
2.2	คุณค่าทางอาหารในธัญพืชชนิดต่าง ๆ	9
2.3	แสดงองค์ประกอบของลูกเดือยเปรียบเทียบกับข้าวสาร	9
2.4	สายพันธุ์ต่าง ๆ ของเชื้อราโมแนสคัส	12
2.5	ตัวอย่างสารเมทาบอไลต์จากเชื้อราโมแนสคัส	13
2.6	แสดงช่วงค่าระดับปัจจัยทั้ง 5 ระดับจาก 3 ปัจจัยที่ทำการทดลอง	22
2.7	การวางแผนการทดลองออกแบบโดย Central composite design (CCD)ใช้โปรแกรม JMP ในการหาระดับปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อรา *M. purpureus* TISTR 3090 โดยได้ทำการศึกษา 3 ปัจจัย และ 5 ระดับปัจจัย	23
3.1	แสดงช่วงค่าระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลอง	38
3.2	แผนผังการทดลองเพื่อหาสภาวะและระดับปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อรา *M. purpureus* TISTR 3090	39
3.3	แสดงองค์ประกอบของกุนเชียงสูตรมาตรฐาน	43
4.1	ตาราง ANOVA ที่แสดงถึงปัจจัยทางด้านความชื้น พีเอช และ อุณหภูมิที่มีผลต่อการผลิตสารสีของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือย	48
4.2	แสดงค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของการผลิตสารสีจากเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090	49
4.3	ผลของการผลิตสารสีโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทำนาย	53
4.4	แสดงการเปรียบเทียบองค์ประกอบสารอาหารของลูกเดือยที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 10 วัน ในสภาวะที่เหมาะสมกับลูกเดือยที่ไม่ผ่านการหมัก	55
4.5	แสดงปริมาณวิตามิน บี1 บี 2 แคลเซียม ฟอสฟอรัส และอะฟลาทอกซินในลูกเดือยที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบกับลูกเดือยที่ไม่ผ่านการหมัก	56
4.6	แสดงปริมาณโปรตีนของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	58

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.7	แสดงปริมาณไขมันของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	60
4.8	แสดงปริมาณเถ้าของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	62
4.9	แสดงความชื้นของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	64
4.10	แสดงค่า Water activity (a_w) ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	66
4.11	แสดงค่า L* ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	67
4.12	แสดงค่าสีแดง (a*) ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	69
4.13	แสดงค่าสีเหลือง(b*) ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	71
4.14	แสดงค่าทีบีเอ ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร ที่มีเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	73
4.15	แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน	75
4.16	แสดงจำนวนยีสต์และราของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน	77
4.17	แสดงคะแนนความชอบด้านสีของผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน	79
4.18	แสดงคะแนนความชอบด้านเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน	80
4.19	แสดงคะแนนความชอบด้านความแน่นเนื้อของผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน	81

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ลูกเดือย	6
2.2	เชื้อรา *M. purpureus*	10
2.3	แสดงวงจรชีวิตของเชื้อราโมแนสคัส	11
2.4	ตัวอย่างโครงสร้างทางเคมีของสารสีที่เชื้อราโมแนสคัสสร้างขึ้น	16
2.5	แสดงการออกแบบส่วนประสมกลาง (CCD) (ก) k = 2 (ข) k =3	18
2.6	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจำเพาะของขนมปังกับเวลา	29
2.7	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจำเพาะของขนมปังกับอุณหภูมิ	20
2.8	แสดงผลการทดลองที่ออกแบบ CCD และแสดงผลการทดลองระบบ RSM โดย k = 2	22
2.9	แสดงตัวอย่างกราฟ 3 มิติ ที่นำเสนอภาพแบบ Top view	24
2.10	แสดงตัวอย่างกราฟ 3 มิติ ที่นำเสนอภาพแบบ Contour plot	24
2.11	แสดงการเปลี่ยนแปลงจากออกซีไมโอโกลบินเป็นเมทไมโอโกลบิน	27
2.12	บทบาทของไนไตรท์ในการเกิดสารสีแดงในผลิตภัณฑ์เนื้อ	28
2.13	สูตรโครงสร้างของกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอท	30
4.1	แสดงกราฟ 3 มิติของผลจากปัจจัยร่วมกันของความชื้นและพีเอชต่อการผลิตสารสี	50
4.2	แสดงกราฟ 3 มิติของผลจากปัจจัยร่วมกันของความชื้นและอุณหภูมิต่อการผลิตสารสี	50
4.3	แสดงกราฟ 3 มิติของผลจากปัจจัยร่วมกันของพีเอชและอุณหภูมิต่อการผลิตสารสี	51
4.4	ปริมาณสารสีและปริมาณเอนอะซิติลกลูโคซามีนที่ได้จากการหมักของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยเป็นเวลา 25 วัน	53
4.5	ลักษณะของลูกเดือยที่ได้จากการหมักของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090ในสภาวะอาหารแข็งเป็นเวลา 10 วัน	54
4.6	ลักษณะของผงลูกเดือยที่ได้จากการหมักผ่านการฆ่าเชื้อและนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง	54

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.7	แสดงลักษณะของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร ที่มีการนำลูกเดือยที่ได้จากการหมักมาทดแทนสารไนไตรท์บางส่วน	57
4.8	แสดงปริมาณโปรตีนที่ลดลงของกุนเชียงทั้ง 7 สูตรที่มีการทดแทนไนไตรท์บางส่วนด้วยลูกเดือยที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 โดยทำการศึกษาเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	59
4.9	แสดงปริมาณไขมันที่ลดลงเมื่อเก็บรักษากุนเชียงทั้ง 7 สูตร ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน	61
4.10	แสดงปริมาณเถ้าที่เพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษากุนเชียงทั้ง 7 สูตรที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน	63
4.11	แสดงปริมาณความชื้นที่ลดลงเมื่อเก็บรักษากุนเชียงทั้ง 7 สูตรที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	65
4.12	แสดงค่า a_w ที่ลดลงของกุนเชียงทั้ง 7 สูตรเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	67
4.13	แสดงความสว่าง (L*) ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน	68
4.14	แสดงค่าสีแดง (a*) ที่เปลี่ยนแปลงของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาเวลา 28 วัน	70
4.15	แสดงสีเหลือง (b*)ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาเวลา 28 วัน	72
4.16	แสดงค่าทีบีเอที่เพิ่มขึ้นของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน	74
4.17	แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน	76
4.18	แสดงจำนวนยีสต์และราที่เพิ่มขึ้นของกุนเชียงทั้ง 7 สูตรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน	78

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันโรคหลอดเลือดหัวใจ เป็นสาเหตุที่ทำให้ผู้คนเสียชีวิตเป็นจำนวนมาก เนื่องจากโรคเหล่านี้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณ และ ชนิดของไขมันที่คนเราบริโภคอยู่ทุกวัน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าผู้บริโภคจำนวนมากนิยมหันมารับประทานอาหารที่มีไขมันต่ำ อย่างไรก็ตามไขมันยังเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารประเภทเนื้อสัตว์ เนื่องจากเป็นตัวที่ทำให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสและกลิ่นรสที่ดีในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ

กุนเชียงเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อสัตว์ชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นที่นิยมบริโภคของคนชาวเอเชีย อย่างไรก็ตาม กุนเชียงมีไขมันในปริมาณสูง ประมาณร้อยละ 20 - 30 (Wang. 1995) ในขบวนการผลิตกุนเชียงมีการเติมสารไนไตรท์ลงไปเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดงแต่ไนไตรท์ที่ใส่ลงในขบวนการผลิตกุนเชียงจะเป็นตัวเร่งให้ไขมันที่มีอยู่สูงในกุนเชียงเกิดการหืนเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Honikel. 2008) อีกทั้งไนไตรท์เป็นตัวสร้างสารก่อมะเร็ง (carcinogenic) ที่เรียกว่า เอนไนโตรซา-มีน (N-nitrosamine) ซึ่งเกิดจากเอมีน และ กรดอะมิโนจากโปรตีนเนื้อสัตว์ ดังนั้นการหาสารมาทดแทนไนไตรท์ จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถลดปัญหาที่เกิดได้ สารสีแดงจากธรรมชาติที่น่าสนใจ คือ สารสีแดงจากเชื้อรา *Monascus purpureus* ซึ่งเป็นสารสีจากธรรมชาติชนิดหนึ่ง ที่มีราคาถูก มีความปลอดภัย และไม่พบว่าเป็นสารก่อมะเร็งเหมือนกับสีผสมอาหารสังเคราะห์ สารสีที่เชื้อรา *M. purpureus* ผลิตนี้ประกอบด้วยสารโมนาโคลิน เค (monacolin K) โดยสารนี้เป็นสารทุติยภูมิมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Galap และคณะ. 2005) และสารชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชัน (peroxidation) และมีกิจกรรมในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH free radicals scavenging activity) (Tseng และคณะ. 2006) จึงสามารถลดหรือชะลอการหืนในผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบได้ นอกจากนี้มีการศึกษามากมายที่จะลดปริมาณไขมันในกุนเชียงลง โดยใช้วัตถุดิบชนิดอื่นๆ มาทดแทนไขมัน เช่น การใช้โซเดียมอัลจิเนตและคาราจีแนน (Lee และคณะ. 1992) หัวบุก และวุ้น (Chung. 1997) ไคโตซาน(Lin และ Chao. 2001) โปรตีนจากเวย์โซเดียมแคซีเนส และไข่ขาว

จากคุณค่าทางอาหารที่มีในลูกเดือย งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำลูกเดือยมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตสารสีจากเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีจากเชื้อชนิดนี้โดยการหมักในสภาวะอาหารแข็ง ดังนั้นการหาวัตถุดิบมาทดแทนไขมันบางส่วน

และหาสารสีจากธรรมชาติมาใช้ทดแทนไนไตรท์และทำให้ผลิตภัณฑ์กุนเชียงมีการยอมรับจากผู้บริโภคเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องศึกษาและพัฒนาต่อไป

เชื้อรา *Monascus* sp. จัดอยู่ใน Class Ascomycetes เจริญได้ดีบนอาหารแข็งในรูปของข้าวแดง (อังคัก) เพื่อใช้ปรุงแต่งสีในไวน์ เต้าหู้ยี้ ใช้ถนอมอาหารประเภทเนื้อ ใช้รักษาโรค รวมทั้งใช้เป็นสีผสมในอาหาร ยา และ เครื่องสำอางค์ เชื้อราชนิดนี้นอกจากสร้างสารสีแล้ว ยังสร้างสารอื่นที่เป็นประโยชน์อีกหลายชนิด เช่น โมนาสซิดิล เอ (monascilin A) เอนไซม์ สารโมนาโคลินที่ใช้ยับยั้งการสังเคราะห์โคเลสเตอรอล สารลดความดันโลหิต และ สารช่วยในการตกตะกอน (Fink - Germmels และคณะ. 1991) *Monascus purpureus* เป็นเชื้อราที่ใช้เป็นสารที่ให้สี และ กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มนานแล้ว (Johns และ Stuart. 1991; Su. 1977; Wong และคณะ. 1981; Lin และ Demain. 1991; Chen และ Johns. 1993) สารสีที่ได้จากเชื้อชนิดนี้มีความคงตัวและเหมาะสมที่จะนำมาเติมในผลิตภัณฑ์อาหาร (Fink – Germmels และคณะ. 1991; Fabre และคณะ. 1993; Juzlova และคณะ; 1996) สารสีธรรมชาติจากเชื้อรา *Monascus* ถูกนำมาใช้เป็นสีผสมอาหารแทนสีสังเคราะห์ที่ผลิตโดยวิธีทางเคมี เพราะมีราคาถูก ความปลอดภัยสูง อีกทั้งยังไม่พบว่าเป็นสารก่อมะเร็งเหมือนสีผสมอาหารประเภทสีสังเคราะห์ที่มีองค์ประกอบพวก cocal tar dyes จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสีที่ได้จากเชื้อรา *Monascus* พบว่า สารสีไม่มีความเป็นพิษต่อการฟักตัวของไข่ไก่และไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซมของเม็ดเลือดขาวไม่พบความผิดปกติใด ๆ ในหนูทดลอง (บุษบา ยงสมิทธ์ และคณะ. 2531)

สับสเตรทที่ใช้ในการหมักของเชื้อ *M. purpureus* เพื่อผลิตสารสีปกติจะเป็นข้าว (Palo และคณะ. 1960) โดยข้าวที่ใช้อาจเป็นข้าวเหนียวหรือข้าวจ้าวก็ได้ แต่สายพันธุ์ข้าวเหนียวให้ผลไม่ดีนัก บุษบา ยงสมิทธ์ (2518) ได้ทดลองการผลิตสารสีจาก *M. purpureus* มาทดสอบกับข้าวพันธุ์ต่างๆ ของไทย พบว่าข้าวพันธุ์เขี้ยวงู และ ข้าวพันธุ์หอมมะลิให้สีเข้มใกล้เคียงกัน แต่ข้าวเหนียวให้กลิ่นหอมมากกว่าข้าวหอมมะลิ สำหรับข้าวสายพันธุ์อื่นๆ เช่น พันธุ์เสาไห้ พันธุ์ธรรมดา ล้วนแต่ให้สีและ ความหอมน้อยกว่ามาก นอกจากข้าวแล้วเมล็ดธัญพืชต่าง ๆ ก็ใช้เป็นสับสเตรทได้เช่นกัน โดยพบว่า เมล็ดข้าวโพด มันเทศ มันสำปะหลัง มันฝรั่ง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ข้าวฟ่าง ขนมปัง สามารถนำมาใช้เป็นสับสเตรทในการเลี้ยงเชื้อ *M. purpureus* ให้ผลิตสารสีได้ (พลายแก้ว ไชยเบญจรงค์ และ บุษบา ยงสมิทธ์. 2534) Rashbaum และ Yueh (1983) ทดลองใช้ข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี และข้าวบาร์เลย์เป็นสับสเตรทแทนข้าว พบว่าให้ผลดีเช่นกัน

ลูกเดือยเป็นธัญพืชประเภทคาร์โบไฮเดรต และ เป็นธัญพืชพื้นเมืองของชาวเอเชียตะวัน ออกเฉียงใต้ มีเส้นใยอาหารสูง เป็นพืชตระกูลเดียวกับข้าวซึ่งมีคุณค่าทางอาหารสูง มีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน ใยอาหาร และแร่ธาตุต่าง ๆ มากมาย โดยเฉพาะฟอสฟอรัสที่มีในปริมาณสูง รวมทั้งวิตามินเอ วิตามินบี 1 และ วิตามินบี 2 โดยเฉพาะวิตามินบี1 มีในปริมาณสูง กรดอะมิโนที่มี

อยู่ในลูกเดือย ส่วนใหญ่มีอยู่ในปริมาณสูงกว่าความต้องการมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก (FAO/WHO. 1973)

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็ง เช่น ความชื้นเริ่มต้น อุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อ และพีเอช ออกแบบการทดลองแบบ Central composite design (CCD) และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี Response surface methode (RSM)

1.2.2 ศึกษาการเจริญและการผลิตสารสีของเชื้อรา *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือย ในสภาวะอาหารแข็ง

1.2.3 ศึกษาการนำลูกเดือยที่ได้จากการหมักมาทดแทนไนไตรท์บางส่วนในกุนเชียงวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ ทางด้านจุลินทรีย์ และ การยอมรับของผู้บริโภค

1.2.4 ศึกษาอายุการเก็บรักษาของกุนเชียงที่มีการใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมักมาทดแทนไนไตรท์บางส่วน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการเจริญและการผลิตสารสีของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยจากนั้นศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อชนิดนี้ เลี้ยงเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะที่เหมาะสม และนำลูกเดือยที่ได้จากการหมักใช้เป็นส่วนประกอบในการทำกุนเชียงโดยใช้ทดแทนสารไนไตรท์บางส่วน วิเคราะห์ส่วนประกอบต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ได้ในแต่ละสูตร รวมทั้งศึกษาอายุการเก็บรักษากุนเชียงที่ได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำลูกเดือยมาใช้เป็นวัตถุดิบในการเลี้ยงเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 เพื่อให้เชื้อผลิตสารสีได้ในปริมาณสูง จากนั้นนำลูกเดือยที่ได้จากการหมัก มาทดแทนไนไตรท์บางส่วนในกุนเชียง ทำให้กุนเชียงที่ได้มีความปลอดภัยต่อการบริโภคมากขึ้นเนื่องจากมีการใช้สารไนไตรท์ลดลง

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ประวัติและความเป็นมาของข้าวแดง

ข้าวแดงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักข้าวกับเชื้อราสกุล *Monascus* จัดเป็นสีผสมอาหารโดยธรรมชาติที่ได้จากการหมักในสภาวะอาหารแข็ง (solid state fermentation) โดยเชื้อราจะมีการสร้างสารสีภายในเส้นใย โดยจะมีการปลดปล่อยบางส่วนออกมาภายนอกเส้นใย ทำให้เม็ดข้าวมีสีแดงเข้ม (กังสดาลย์ บุญปราบ และคณะ. 2539) โดยจะมีกลิ่นที่เฉพาะตัว ข้าวแดงเป็นที่รู้จักกันมานานแล้วในประเทศแถบทวีปเอเชีย เช่น ประเทศจีน ไต้หวัน ญี่ปุ่น ไทย กัมพูชา อินโดนีเซีย เป็นต้น (Lin และคณะ. 2007) ข้าวแดงมีประวัติความเป็นมานานหลายพันปี โดยมีบันทึกเก่าแก่เกี่ยวกับการใช้ข้าวแดงเป็นยาพื้นบ้าน (Chen และ Hu. 2005) ต่อมาได้มีการแยกเชื้อในข้าวแดงที่ได้จากประเทศจีน จนได้ทราบว่าเชื้อที่ให้สีแดงคือ เชื้อรา *M. purpureus* ต่อมา Palo และคณะ (1960) ได้ทดลองใช้เชื้อรานี้ผลิตข้าวแดง จนสามารถนำไปใช้เจือสีอาหารได้โดยตรง ซึ่งการใช้สารสีจากจากเชื้อจุลินทรีย์ เป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการใช้สารสีจากธรรมชาติในการแต่งเติมสีสันให้กับอาหารแทนการใช้สีสังเคราะห์ซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคสูง เนื่องจากอาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenicity) และ เป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen) (Carvalho. 2003) การใช้ข้าวแดงจากเชื้อโมแนสคัสมีการใช้อย่างแพร่หลายในเอเชีย โดยใส่ในอาหารหมัก เช่น เต้าหู้ยี้ เหล้าเกาเหลียง และผลิตภัณฑ์เนื้อ นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งของกลิ่นและเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ เช่น กลู-โคอะไมเลส และเอนไซม์โปรติเอส เป็นต้น (Kranz และคณะ. 1992)

นอกจากนี้ได้มีการใช้ข้าวแดงในรูปผงเป็นสารให้สีในผลิตภัณฑ์อาหารในอเมริกาเหนือได้มีการใช้ข้าวแดงเพื่อเพิ่มสีให้กับผลิตภัณฑ์ปลา เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และเนยแข็ง (cheese) ใช้แทนสารไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อซึ่งปัจจุบันในยุโรปมีการนำข้าวแดงมาใช้ในการเพิ่มสีผลิตภัณฑ์ไส้กรอก แฮม ซาลามิ (salami) และซอสมะเขือเทศ

2.2 การผลิตข้าวแดง

วัตถุดิบที่ใช้ผลิตข้าวแดงมีหลายชนิด ซึ่งข้าวแดงก็จะมีชื่อเรียกที่แตกต่างกันออกไป เช่น ข้าวแดง (red yeast rice) อังคัก (angkak) โคจิ (koji) และ anka เป็นต้น สำหรับการผลิตข้าวแดง(อรัญ หันพงศ์กิติกุล และคณะ. 2531) ทำโดยนำข้าวมานึ่งให้สุก ปล่อยทิ้งให้เย็นและเติมเชื้อ *M. purpureus* ปล่อยให้เชื้อราเจริญในข้าวที่อุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3 สัปดาห์ ก็จะได้ข้าวแดง

Babitha และคณะ (2007) ใช้เมล็ดขนุนเป็นวัตถุดิบ ปริมาณ 5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร ปรับความชื้นเริ่มต้นให้ได้ร้อยละ 60 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อ *M. purpureus* 1.5×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ลงไป 2 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

การผลิตข้าวแดงของไต้หวัน (Chu Chong) (อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547) วิธีนี้จะใช้เชื้อ 2 ชนิด คือ *Monascus anka* และยีสต์ *Saccharomyces formosensis* ซึ่งวัตถุดิบใช้ข้าวเหนียวนึ่งสุกผสมกับไวน์ข้าว หมักไว้ที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-15 วัน หลังจากนั้นจึงนำมาบดและนำไปผสมกับข้าวเหนียวนึ่งสุกที่เย็นแล้ว หมักไว้ที่ 35 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 1 วัน เมื่ออุณหภูมิสูงถึง 45 องศาเซลเซียส จึงเกลี่ยข้าวบนถาดและทิ้งไว้ 6-7 วัน แล้วจึงทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน จะได้ข้าวแดง (Su และ Wang. 1997)

การผลิตข้าวแดงผลิตภัณฑ์จะเปลี่ยนเป็นข้าวแดง ได้ที่ความชื้นเริ่มต้นต่ำ ถ้าผลิตภัณฑ์มีระดับความชื้นสูงจะมีลักษณะแฉะ และ มีปริมาณเอทานอลสูง ความเข้มข้นสีต่ำมากสาเหตุเนื่องมาจากเมื่อปริมาณความชื้นสูงเชื้อ *Monascus* sp. จะมีการสร้างเอนไซม์กลูโคอะไมเลสได้สูง ทำให้แป้งเปลี่ยนไปเป็นกลูโคสได้มาก ซึ่งปริมาณกลูโคสที่สูงจะไปยับยั้งการผลิตสารสีและเชื้อจะใช้น้ำตาลกลูโคสไปผลิตเอทานอลขึ้นมาแทน (Lotong และ Suwanarit. 1990)

การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุชนิดต่างๆจากข้าวแดงที่หมักได้ เปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์หอมมะลิแสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณแร่ธาตุและวิตามินในข้าวสารพันธุ์ขาวมะลิ และข้าวแดงที่ผลิตได้จากข้าวพันธุ์เดียวกัน

รายการ	ข้าวพันธุ์ขาวมะลิ (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	ข้าวแดงที่ผลิต ได้ (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)
แคลเซียม	4.30	18.70
ฟอสฟอรัส	86.70	326
วิตามินบี 1	0.12	0.54
วิตามินบี 2	0.04	9.28

ที่มา : กรมวิทยาศาสตร์บริการ. (2518)

2.3 เดือย (Adlay)

ชื่อสามัญ : Pearl barley , Adlay , Ma Yuen (จีน)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Coix lacryma-jobi*

รูปที่ 2.1 ลูกเดือย

ที่มา : http://www.plengpakjai.net/index.php?topic=4558.0

เดือยเป็นธัญพืชตระกูลหญ้า (Gramineae) มีโครโมโซม 2n = 20 ลักษณะการเจริญเติบโตคล้ายพืชในตระกูลเดียวกัน เช่น ข้าวหรือข้าวฟ่าง เดือยที่ปลูกจาก 1 เมล็ดจะแตกกอเมื่ออายุประมาณ 2 เดือน ได้ 4-5 แขนง ต้นเดือยมีความสูงตั้งแต่ 1-3.5 เมตร

ใบมีขนาด 20-45 x 2.5-5 เซนติเมตร ติดอยู่กับกาบใบที่หุ้มลำต้น ปลายใบเรียวแหลม แผ่นใบมีลักษณะ คล้ายใบหอก (lanceolate) เส้นกลางใบเป็นร่องยาวไปตามความยาวของใบ ช่อดอกแตกขึ้นไปจากซอกใบที่อยู่บริเวณของกิ่ง ช่อดอกยาว 3-8 เซนติเมตร เดือยจะมีทั้งดอกตัวผู้และดอกตัวเมียบนช่อเดียวกัน ดอกโครงสร้างสลับซับซ้อน กว่าดอกของพืชชนิดอื่นๆ ก้านดอกจะรองรับกระเปราะที่จะพัฒนาต่อไปเป็นที่บรรจุผล หรือเมล็ด ภายในกระเปาะบรรจุดอกตัวเมีย 1 ดอก และก้านชูเกสรตัวเมียสีแดงคล้ำ 2 อัน ซึ่งจะยื่นโผล่ออกมาจากกระเปาะ เพื่อรอรับการผสม กระเปาะเป็นที่กำเนิดของก้านชูช่อดอกตัวผู้ที่โผล่ออกไปอยู่เหนือกระเปาะ ช่อดอกตัวผู้จะมีดอกตัวผู้อยู่ประมาณ 10 ดอก แต่ละดอกมีความยาว 7-8 เซนติเมตร รูปร่างคล้ายสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูนเรียวๆ ดอกจะร่วงเมื่อแก่ มักจะเกิดเป็นคู่ มีกาบดอกชั้นนอก (glume) 2 อัน ภายในมีกลีบดอกชนิด lemma 1 อัน และ palea ที่เล็กกว่า 1 อัน มีอับเกสรตัวผู้ 3 อัน เมล็ด เกิดจากการผสมเกสร รังไข่จะเจริญไปเป็นผลปลอม (false fruit) หรือเมล็ด เมื่อมองด้านหน้าจะคล้ายรูปหัวใจ มองด้านบนจะคล้ายเมล็ดถั่ว ที่มีร่องเว้าเข้าไปตรงกลาง แต่ร่องจะลึกกว่า มีความยาว 8-12 มิลลิเมตร เนื้อของผลและเมล็ดจะหลอมเป็นเนื้อเดียวกันจนแยกไม่ออก (caryopsis) เยื่อหุ้มเมล็ดมีสีน้ำตาลแดง น้ำตาลเข้ม หรือน้ำตาลอ่อน เดือยส่วนใหญ่เป็นพืชที่ไวต่อช่วงแสง โดยจะออกดอกในช่วงที่มีแสงน้อยกว่า 12 ชั่วโมง ประมาณเดือนกันยายน ส่วนใหญ่จะผสมข้าม เนื่องจากดอกตัวผู้และดอกตัวเมียบานไม่พร้อมกัน ww.thrai.sci.ku.ac.th/node/105)

2.3.1 แบ่งตามการใช้ประโยชน์ (http://it.doa.go.th/vichakan/news.php?newsid=19) เดือยอาจแบ่งได้เป็น 3 ประเภท

2.3.1.1. เดือยหิน ใช้เป็นเครื่องประดับคล้ายลูกปัด เช่น ทำพวกสายสร้อย ตกแต่งเสื้อผ้า ซึ่งเป็นที่นิยมปลูกกันในหมู่ชาวเขาทางภาคเหนือ เดือยประเภทนี้มีเปลือกหุ้มเมล็ดเป็นเงา หนา แข็ง และเหนียวมาก และ มีหลายสี เช่น สีขาว หรือเทาอ่อน หรือมีหลายสี อ่อนแก่บนเมล็ดเดียวกัน น้ำหนักทั้งเปลือก 100 เมล็ด อยู่ระหว่าง 10.5-32.8 กรัม ต้นส่วนมากจะเตี้ยกว่าเดือยประเภทอื่น

2.3.1.2. เดือยขบ มักจะปลูกกันตามบ้านในปริมาณน้อย สำหรับเป็นของขบเคี้ยวในครอบครัว หรือจำหน่ายในตลาดของท้องถิ่นโดยจะตัดทั้งช่อ และ ต้นมักจะพบในชนบททั่วไป เมล็ดขนาดโตค่อนข้างกลม เปลือกค่อนข้างหนาและแข็งปานกลาง ในการบริโภคนั้นต้องใช้ฟันขบจึงเรียกว่า

"เดือยขบ" เปลือกมีหลายสีปนกันบนเมล็ดเดียว เช่น ครึ่งหนึ่งสีครีมอีกครึ่งหนึ่งสีน้ำตาลแก่ น้ำหนัก 100 เมล็ดทั้งเปลือกประมาณ 18.6 กรัม เดือยขบมีลำต้นสูงประมาณ 2 เมตร

2.3.1.3 เดือยการค้า เป็นเดือยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และ ปลูกมากที่สุด เมล็ดที่กะเทาะเอาเปลือกออกแล้วจะใช้บริโภคได้หลายรูปแบบ เดือยการค้า จะมีทั้งเดือยข้าวเจ้าและข้าวเหนียว เนื่องจากมีทั้งประเภท ที่เปลือกหนาค่อนข้างแข็งและประเภทเปลือกบางเปราะ ถ้าเป็นชนิดแรก ผิวเปลือกมักจะมันเป็นเงามีสีขาวปนเทาส่วนชนิดหลังผิวเปลือกจะด้านและมักมี สีเดียวล้วนๆ

เช่น มีสีน้ำตาลอมเทา เมล็ดจะยาวรี น้ำหนัก 100 เมล็ดทั้งเปลือกอยู่ระหว่าง 10.8-19.0 กรัม ต้นเดือย การค้าจะสูงพอๆ กับเดือยขบ

2.3.2 แบ่งตามคุณสมบัติของแป้งเดือย (http://it.doa.go.th/vichakan/news.php?newsid=19) จะแบ่งเดือยได้เป็น 2 ประเภทคือ

2.3.2.1. เดือยข้าวเจ้า เมื่อนำเดือยประเภทนี้ไปต้ม แป้งและน้ำต้มเดือยจะไม่เหนียวลื่น หรือเป็นเมือก เมล็ดทั้งเปลือกค่อนข้างยาวขนาดเล็ก เปลือกสีน้ำตาลแก่ ค่อนข้างหนาและแข็ง เนื้อแป้งของเมล็ดจะค่อนข้างแข็ง โรงสีจะชอบเพราะสามารถเก็บเมล็ดเดือยไว้ได้นาน เดือยชนิดนี้มีต้นสูง และลำต้นสีเขียวนวลขนาดใหญ่

2.3.2.2. เดือยข้าวเหนียว เนื้อแป้งเมื่อหุงต้มจะนุ่มเป็นเมือกลื่น ๆ คล้ายกับข้าวเหนียว หรือมีแป้งข้าวเหนียว (อะไมโลเพ็คติน) เป็นส่วนใหญ่ มีแป้งอะไมโลสเพียงร้อยละ 2 - 3 ผู้บริโภคนิยมมากกว่าเดือยข้าวเจ้า เมล็ดทั้งเปลือกกลมสั้น โตกว่าเดือยข้าวเจ้า เปลือกเมล็ดสีเทาอ่อน บางและกรอบ บีบแตกง่าย เนื้อแป้งของเมล็ดจะค่อนข้างอ่อน ทำให้สีหรือกระเทาะได้น้ำหนักน้อย เพราะแตกหักง่าย แต่อาจทำให้ ได้รำมาก สีแล้วได้เนื้อเดือย ต้นเตี้ยกว่าพันธุ์ข้าวเจ้า สีของลำต้นค่อนข้างเหลือง

2.3.3 องค์ประกอบของลูกเดือย (http://www.kasetporpeang.com/forums/index.php?topic=2319.0)

ลูกเดือย เป็นธัญพืชประเภทคาร์โบไฮเดรต และเป็นพืชพื้นเมืองแท้ๆของคนในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ที่มีเส้นใยอาหารสูง เป็นพืชตระกูลเดียวกับข้าว โดยมีลักษณะเป็นเม็ดสีขาว เม็ดจะออกกลม ๆ รี ๆ รสชาติออกมันเล็กน้อย ลูกเดือยมีคุณค่าทางอาหารสูง เพราะมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 13.84 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 70.65 ใยอาหารร้อยละ 0.23 ไขมันร้อยละ 5.03 แร่ธาตุต่างๆ อีกมากมาย โดยเฉพาะฟอสฟอรัส ซึ่งช่วยบำรุงกระดูก มีอยู่ในปริมาณสูง รวมทั้งวิตามินเอ ที่ช่วยบำรุงสายตา วิตามินบี1 และวิตามินบี2 โดยเฉพาะวิมามินบี1 มีในปริมาณมาก (มีมากกว่าข้าวกล้อง) ซึ่งช่วยแก้โรคเหน็บชาด้วย ลูกเดือยยังมีกรดอะมิโนทุกชนิดที่สูงกว่าความต้องการตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก ยกเว้นเมทไธโอนีนและไลซีน เช่น มีกรดกลูตามิกในปริมาณมากตามด้วยลูซีน อลานีน โปรลีน วาลีน ฟีนิลอะลานีน ไอโซลูซีน และอาร์จีนีนลดหลั่นลงมา มีกรดไขมันจำเป็นชนิดที่ไม่อิ่มตัวด้วย เช่น กรดโอเลอิค และกรดลิโนเลอิก รวมแล้วถึงร้อยละ 84 และเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว คือ ปาล์มิติก และสเตียริก เพียงร้อยละ 16 เท่านั้น ดังตารางแสดงคุณค่าทางอาหารของธัญพืชชนิดต่าง ๆ (ตารางที่ 2.2) และแสดงใน องค์ประกอบของลูกเดือยโดยเปรียบเทียบกับข้าวสาร (ตารางที่ 2.3)

ตารางที่ 2.2 คุณค่าทางอาหารในธัญพืชชนิดต่าง ๆ

ธัญพืช	พลังงาน (กิโลแคลอรี่)	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	Ca	P	Fe	B1	B2	Niacin
		(กรัม)			(มิลลิกรัม)					
ข้าวเจ้า	352	6.4	0.9	79.8	0	130	0.9	0.26	0.25	1.6
ข้าวเหนียว	360	7.4	2.1	77.1	12	243	3.4	0.30	0.12	5.0
ข้าวโพด	188	1.0	1.9	39.3	4	116	0.4	0.26	0.15	1.5
ข้าวสาลี	348	1.2	1.5	71.2	50	320	5.3	0.54	0.12	5.0
ข้าวโอ๊ต	374	13.1	6.1	67.4	59	425	4.6	0.35	0.09	2.2
ลูกเดือย	306	12.0	6.7	64.9	46	148	0.7	0.41	0.10	2.3

ที่มา : กองโภชนาการ กรมอนามัย. (2530)

ตารางที่ 2.3 แสดงองค์ประกอบของลูกเดือยเปรียบเทียบกับข้าวสาร

องค์ประกอบ	เดือยปริมาณ (ร้อยละ)	ข้าวปริมาณ (ร้อยละ)
คาร์โบไฮเดรต	77.10	28.17
โปรตีน	14.78	2.69
ไขมัน	6.18	0.28
ความชื้น	10.37	68.44
เถ้า	1.17	0.41
ใยอาหาร	0.23	0.40

ที่มา : มยุรกาญจน์ เดชกุญชร และมาศอุบล ทองงาม. (2550)

2.4 ประวัติและความสำคัญของเชื้อ *Monascus* sp.

2.4.1 การจัดจำแนกเชื้อรา *Monascus* sp.

เชื้อราโมแนสคัสสามารถจัดจำแนกได้ดังนี้

กลุ่ม	Ascomycetes
กลุ่มรอง	Plectomycetidae
กลุ่มย่อย	*Eurotiales*
วงศ์	*Monascus*

2.4.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราโมแนสคัส

รูปที่ 2.2 เชื้อรา *M. purpureus*

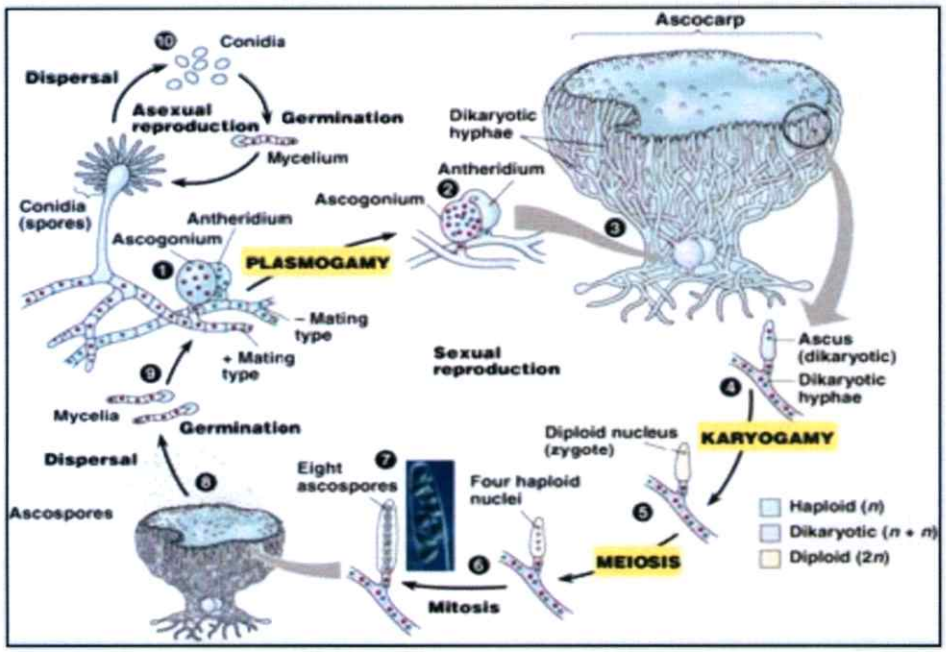
ที่มา : http://www.bcrc.firdi.org

เชื้อราโมแนสคัสเคยจัดอยู่ในวงศ์ Aspergillaceae อันดับ *Plectasxales* แต่ปัจจุบันจัดอยู่ในวงศ์ *Monascus* กลุ่ม Ascomycetes กลุ่มย่อย Eurotiales (Alexopoulos และ Mims. 1979; Hawksworth และคณะ. 1983) เส้นใยมีผนังกั้น มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ เส้นใยมีการแตกกิ่งก้านสาขามากมายและมักเจริญแบบชิดเกาะแน่นบนผิวของอาหารแข็ง เส้นใยอายุอ่อนมีสีขาวแต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดงม่วง

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศมีการสร้างโคนิเดียเจริญมาจากโคนิดิโอฟอร์ โคนิเดียมีลักษณะกลมหรือรูปไข่ อาจมีอันเดียวหรือเกิดติดต่อกันเป็นลูกโซ่ (Hawksworth และ Pitt. 1983) โคนิเดียมักไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะเกิดสีแดงได้บ้าง โคนิดิโอฟอร์มีขนาดสั้นอาจมีผนังกั้น 0-1 ด้าน ถ้ามีขนาดยาวจะมีผนังกั้น 2-6 ด้าน เป็นสายตรงหรือขดเป็นเกลียว และเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่ออายุแก่ขึ้น การงอกของโคนิเดียจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหาร เช่น C Medium (Hiroi และคณะ. 1979) เหมาะสมสำหรับการเกิดโคนิเดียของโมแนสคัส นอกจากนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นอีกหลายประการ

เช่น อายุสปอร์ ความหนาแน่นของสปอร์ ความเป็นกรดและด่าง แสงและอุณหภูมิ เช่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปโคนิเดียจะงอกภายใน 4 ชั่วโมง เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสม (Wong และ Bau. 1977)

ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อราโมแนสคัส คล้าย ๆ กับเชื้อราอื่นใน Class asco-mycetes มีการสร้างเพอริทีเซียม (perithecium) ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (ascocarp) มีรูปร่างกลมโดยจะเกิดบนก้าน (stalk) (Kolotila และคณะ. 1980; Smith. 1969; Von Arx. 1970) ที่มีหรือไม่มีผนังกั้น โดยแอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใยซึ่งเป็นแบบโฮโมแทลลิก (homothallic) โดยสร้างโครง สร้างออกมา 2 ชนิด คือ แอนเทอริเดียม (antheridium) แอสโคโกเนียม (ascogonium) เกิดการฟิวชัน ที่ปลายแอสโคโกเนียมกับส่วนฐานหรือส่วนกลางของแอนเทอริเดียม แล้วจะมีการวิวัฒนาการต่อไป คือ แบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ตามมาด้วยไมโตซีส มี daughter nuclei จากการแบ่งตัว มีการขยายผนังเซลล์ออก เรียกว่าการสร้างแอสโคคาร์ปเกิดขึ้นในที่สุด ภายในเพอริทีเซียมมีแอสโคสปอร์ จำนวนมาก โดยแอสโคสปอร์จำนวน 2-8 รวมอยู่ภายในแอสคัส แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ อาจมีสีน้ำตาล สีแดง สีส้ม หรือไม่มีสี เมื่อผนังแอสโคคาร์ปแตกออกก็จะปล่อยแอสโคสปอร์งอกเป็นเส้นใยใหม่ขึ้น วัฏจักรชีวิตของเชื้อรานี้แสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงวงจรชีวิตของเชื้อราโมแนสคัส

ที่มา : www.snr.ac.th/m4html/w4html/images/fu_03.jpg

M. purpureus เป็นเชื้อราที่ค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1884 โดย Van Tieghem แบ่งเป็น 4 กลุ่ม โดยอาศัยลักษณะทางสรีรวิทยาและความสามารถในการสร้างเอนไซม์ ได้แก่ *M. pilosus, M. purpureus, M. rubber, M. floridanas* และสามารถเจริญได้ดีในอาหารแข็งในรูปของข้าวแดง เพื่อใช้ปรุงแต่งสีในไวน์ เต้าหู้ยี้ ใช้ถนอมอาหารประเภทเนื้อ ใช้รักษาโรครวมทั้งใช้เป็นสีผสมอาหาร ยา และเครื่องสำอางค์ ต่อมาได้ผลิตเป็นการค้าในประเทศญี่ปุ่น ไต้หวัน และ จีน (Tseng. 2000) ในปี 1973 ได้เริ่มมีการทดลองเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลว โดย Lin ได้แยกเชื้อราจากข้าวแดง และพบว่าเชื้อราเหล่านี้สร้างสารสีในอาหารเหลวได้ดีเช่นกัน ซึ่งต่อมาได้มีการปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อราเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างสารสี โดยใช้วิธีต่าง ๆ เช่น ใช้สารก่อการกลายพันธุ์ การใช้รังสีต่างๆ การใช้เทคนิคโปรโตพลาสต์ฟิวชั่น การปรับปรุงกรรมวิธีในการเลี้ยงเชื้อทั้งแบบครั้งคราว แบบป้อน และ การใช้วิธีการตรึงเซลล์

เชื้อราโมแนสคัสนอกจากสร้างสารสีแล้วยังสามารถสร้างสารที่เป็นประโยชน์อีกหลายชนิด ในปี 1977 Wong และ Bau รายงานถึงการค้นพบสารต่อต้านแบคทีเรียจากเชื้อรา *M. purpureus* ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่เป็นสาเหตุให้อาหารเน่าเสีย เช่น *Bacillus subtilis. Streptococcus aureus.* และ *Pseudomonas aeruginosa.* เป็นต้น สารนี้มีชื่อว่า โมนาสซิดิน เอ(monascidin A) นอกจากนี้ยังพบการสร้างเอนไซม์ โคเอนไซม์ เอทานอล สารโมนาโคลินที่ใช้ยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล สารลดความดันโลหิต และสารช่วยในการตกตะกอนอีกด้วย

2.4.2 สายพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส

ปัจจุบันสามารถจำแนกได้ 58 สายพันธุ์ ใน American type culture collection แต่โดยพื้นฐานแล้ว Hawksworth และ Pitt (1983) ได้จำแนกไว้ 3 สายพันธุ์หลัก ๆ คือ *M. ruber, M. pilosus, M. purpureus* สำหรับ *M. anka* ซึ่งแยกได้จากข้าวแดงในไต้หวัน โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นในปี 1930 (Su และคณะ 1970) สายพันธุ์ต่างๆของเชื้อราโมแนสคัส ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 สายพันธุ์ต่าง ๆ ของเชื้อราโมแนสคัส

M. albidus	*M. albus*	*M. anka*	*M. araneosus*	*M. barkeri*
M. bisporus	*M. floridanus*	*M. fuliginosus*	*M. kaoliang*	*M. major*
M. mucoroides	*M. olei*	*M. paxii*	*M. pallens*	*M. pilosus*
M. pubigerus	*M. purpureus*	*M. ruber*	*M. purpurescens*	*M. ribiginosus*
M. robropunctatus	*M. sanguineus*	*M. serorubercens*	*M. vini*	*M. vitreus*

ที่มา : รวบรวมจาก Lizuka และ Lin (1981); Hawksworth และ Pit (1983); Nishikawa และคณะ (1988); Nishikawa และ Lizuka (1993); Schindler และคณะ (1992); Cannon และคณะ (1995) โดย บุษบา ยงสมิทธ์ (2542)

ตารางที่ 2.5 ตัวอย่างสารเมทาบอไลต์จากเชื้อราโมแนสคัส

สารเมทาบอไลต์	เอกสารอ้างอิง
เอนไซม์	
1. กลูโคอะไมเลส	Lizuka และ Mineki (1977,1978) Yongsmith และคณะ (1990)
2. โปรติเอส	Nishikawa และคณะ (1988) Tsai และคณะ (1978)
3. แอลฟากาแลคโตซิเดส	Wong และคณะ (1993)
4. แอลฟา อะไมเลส	Yongsmith และคณะ (1990)
5. ไรโบนิวคลีเอส	Yasuda และคณะ (1995)
เมทาบอไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolites)	
1. เอทิลแอลกอฮอล์	Fink-Gremmels และ Leistner. (1989)
2. กรดอินทรีย์	Lumyong และ Tomita. (1992,1993)
3. วิตามิน บี 2	รัตนา (2524, 2528), บุษบา (2529)
4. ไขมัน	Rasheva และคณะ (1997)
เมทาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites)	
1. สารสี (แดง, เหลือง, ส้ม)	Chen และคณะ (1993,1994) Fabre และคณะ (1993)
2. สารปฏิชีวนะ	บุษบา และ นิษา (2540) Martinkova และคณะ (1995)
3. Monacolin	Endo. (1979); Fink-Gremmels และ Leistner (1989)
4. โคเอนไซม์ Q_{10}	Dainippon ink และ Chemical (1982)
5. สารแองคาแลคโตน	Juzlova และคณะ (1996)

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก บุษบา ยงสมิทธ์ (2542)

2.4.3 กระบวนการสังเคราะห์สารสีของเชื้อราโมแนสคัส

เชื้อราในสกุล *Monascus* sp. สามารถสังเคราะห์สารเมทาบอไลต์ทุติยภูมิได้หลายชนิด เช่น สารสี โมนาโคลิน กาบา และ อังคาแลคโตน เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 2.5

สำหรับการสังเคราะห์สารสีนั้นสังเคราะห์ขึ้นจากสารประกอบสี แดง เหลือง และส้ม สารสีดังกล่าวตามปกติจะใช้โดยไม่มีการแยกสีต่าง ๆ ออกจากกัน สีที่ได้รับความสนใจทางการค้าคือ สารประกอบสีแดง โดยสารสีที่ถูกสร้างจากเชื้อราโมแนสคัส มีด้วยกัน 6 ชนิด คือ สีเหลือง (monascin และ ankaflavin), สีส้ม (rubropuntatin และ monascorubrin) และสีแดง (rubropunctamine และ monascorubramine) สารสีดังกล่าวเป็นสารประเภทโพลิคีไทด์ (polyketides) ซึ่งเป็นสารเมทาบอไลต์ทุติยภูมิ โดยสารประเภทโพลิคีไทด์จะมีกระบวนการสังเคราะห์คล้ายกรดไขมัน แต่สารตั้งต้นจะแตกต่างกัน Carels และShepherd (1975) กล่าวว่าสารสีส้มจะถูกสังเคราะห์เป็นสีแรก และสารสีเหลืองหรือสีแดงมาจากปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นกับสารสีส้ม

กลไกการสังเคราะห์สีของเชื้อราโมแนสคัส เกิดจากการรวมตัวของ อะซิเตท 1 โมล และ มาโลแนต 5 โมล โดยการเหนี่ยวนำทำให้เกิดสารประกอบ เฮกซะคีไทด์โครโมฟอร์ โดยใช้เอนไซม์ โพลีคีไทด์ ซินเทส จากนั้นกรดไขมันสายกลาง (medium chain fatty acid C6-C18) เช่น ออกทาโนอิกแอซิด ที่มาจากกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน จะรวมตัวกับโครโมฟอร์ ด้วยปฏิกิริยา Trans-esterification เกิดกับ แฮกซะโนอิกแอซิด ผลจากปฏิกริยาดังกล่าว จะได้สารสีส้ม (monascorubrin หรือ rubropuntatin) ซึ่งสารสีส้มนี้ถูกสังเคราะห์ขึ้นในไซโตซอลจาก อะซิติลโคเอนไซม์ เอ ผ่านกระบวนการใช้เอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ในกลุ่มโพลีคีไทด์ ซินเทส ซึ่งสารสีที่ได้นี้ ไม่ละลายน้ำและไม่คงตัวในสภาวะที่ พีเอชสูงมาก ๆ (Cavalho. 2003) แต่โครงสร้างของสารสีดังกล่าวมีความสามารถจับกับหมู่อะมิโนปฐมภูมิ ในการสร้างเป็นสารประกอบ อะมิโนฟิลเลส ได้

เมื่อมีการลดลงของสารสีส้มจะทำให้สารสีเหลืองเพิ่มขึ้น (ankaflavin) ซึ่งสารสีเหลืองนี้ได้มีการเปลี่ยนแปลงมาจากโรโบพังตาตินและสารสีเหลืองตัวล่าสุดที่ถูกจำแนกที่ได้จากเชื้อรา*Monascus anka* ที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ คือ สารสี แซนโทรโนแนสซิน เอ (xanthomonascin A) และ แซนโทรโนแนสซิน บี (xanthomonascin B) (Martinkova และคณะ. 1995)

สำหรับสารสีแดง (rubropunctamine และ monascorubramine) ถูกสังเคราะห์จากปฏิกิริยา เอมีนเนชัน (amination) ของสารสีส้มกับแอมโมเนีย โดยสารเหล่านี้จะอยู่ในเซลล์ของเชื้อรา เพราะมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำสูง (hydrophobicity) โดยจะถูกขับออกมานอกเซลล์ภายหลังจากที่ทำปฏิกิริยากับหมู่ NH_2 ของกรดอะมิโน ทำให้สารดังกล่าวสามารถละลายน้ำได้

เมื่อเร็ว ๆ นี้ได้มีการค้นพบสารประกอบสีแดงใหม่สองชนิดคือ monasco - pyridines A และ monasco - pyridines B ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบสีแดง แต่มีการเติมหมู่ไฮโดรเจน (Wild และคณะ. 2002)

2.4.4 ความปลอดภัยของสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส

สารสีหลักๆมีด้วยกัน 6 ชนิด สารในกลุ่มสีแดง คือ โรโบพังตามีน (robropunctamine) และโมแนสโครูบลามีน (monascorubramine) เป็นต้น สารในกลุ่มสีส้ม คือ โรโบพังตาติน (rubropuntatin) และ โมแนสโครรูบิน (manascorubin) เป็นต้น สารในกลุ่มสีเหลือง คือ โมแนสซิน (monascin) และ อังคักฟลาวิน (ankaflavin) แสดงในรูปที่ 2.4 นอกจากนี้ยังมี แซนโทรโมแนสซิน เอ และบี (xanthomonascin A , B) ซึ่งสารสีดังกล่าวผลิตจากเชื้อ *M. anka* ที่มีการปรับปรุงลักษณะทางพันธุ์กรรม (Martinkova และคณะ. 1999) โดยสารสีในกลุ่มโมแนสโครรูบิน มีการนำไปประยุกต์ใช้ ในการลดการอักเสบ (Yasukawa และคณะ. 1996)

สำหรับสารในกลุ่มสีเหลือง โมแนสซิน มีการทดลองให้หนูทดลองกิน พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดโรคมะเร็งผิวหนังที่เกิดจากสารประกอบไนไตรท์ (peroxynitrite) หรือ จากแสงอัลตร้าไวโอเล็ตที่ถูกกระตุ้นโดย 12-O-tetradecanoyl- phorbol-13-acetate (TPA) (Yasukawa และคณะ. 1996)

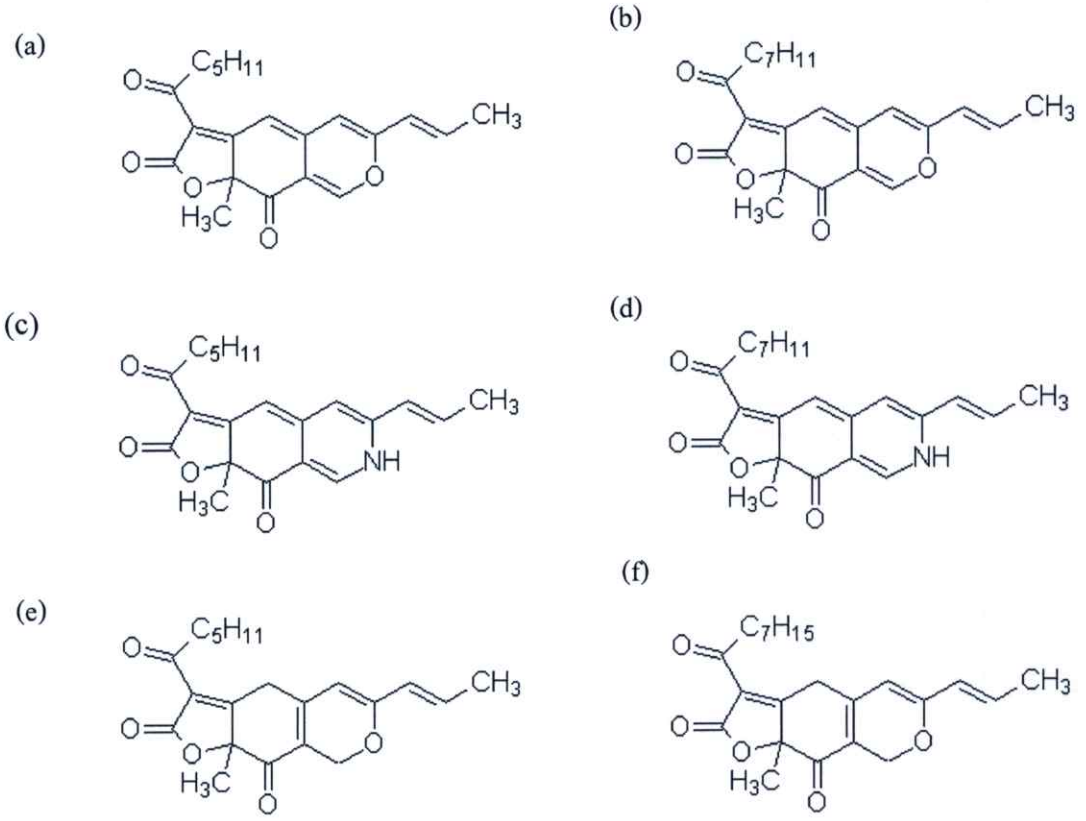
สารสีอังคักฟลาวินมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งโดยทำการทดลองกับเซลล์ไลน์ขณะเดียวกันมีความเป็นพิษต่ำต่อเซลล์กล้ามเนื้อปกติ (Su และคณะ. 2005)

สารในกลุ่มสีส้มโรโบพังตาติน และโมแนสโครรูบิน พบว่ามีผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ยีสต์ และราที่มีลักษณะเส้นใย โดยเฉพาะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* และ *Candida pseudotropicalis* (Martinkova และคณะ. 1995)

2.4.5 ความคงตัวของสีโมแนสคัส

ความคงตัวของสารสีที่ผลิตได้จากเชื้อรา *Monascus* sp. ได้มีการศึกษาโดย นำสารสีที่ถูกเตรียมโดย เมทานอลต่อคลอโรฟอร์ม (1:1) เพื่อนำมาสกัดสารสีที่ผลิตได้จากเชื้อ *M. ruber* มีการนำสารสีที่ได้ไป freeze-dried ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า แสง อุณหภูมิ และพีเอช มีผลต่อสารสีที่ผลิตได้ โดยเมื่อทำการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 50 วัน ในบริเวณที่มีแสงสว่าง สารสีแดงจะเสื่อมสภาพไปร้อยละ 20 และหลังจากที่ให้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ค่าความเป็นสีแดงจะลดลงไปร้อยละ 30 โดยสารสีแดงจะคงตัวที่ พีเอช 7 หรือช่วงพีเอช 3.0 - 9.5 เป็นเวลา 5 ชั่วโมง (Fabre และคณะ 1993)

มีการนำสารสีดังกล่าวไปประยุกต์ใช้โดยนำไปทดแทนสารให้สีที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เช่น เกลือไนไตรท์ ความเข้มข้นของสารสีที่สกัดได้จากเชื้อราโมแนสคัสปริมาณที่นิยมเติมลงไปอยู่ในช่วงปริมาณ 0.25-1.2 กรัมต่อกิโลกรัมของวัตถุดิบ ซึ่งปริมาณที่ใช้จะแตกต่างกันไปตามชนิดของผลิตภัณฑ์ โดยสารสีจากเชื้อโมแนสคัสที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อจะมีความคงตัวของค่าสี กลิ่น และเนื้อสัมผัสร้อยละ 95 หลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในสภาวะสุญญากาศ จึงสามารถนำสารสีแดงจากเชื้อราโมแนสคัสมาทดแทนสารปรุงแต่งสีในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ (Lin และคณะ. 2008)



รูปที่ 2.4 ตัวอย่างโครงสร้างทางเคมีของสารสีที่เชื้อราโมแนสคัสสร้างขึ้น

a, monascorubrin b, monascin c, rubropunctamine d, monascorubramine

e, monascin f, ankaflavine

ที่มา : http://www.springerimages.com/Images/Chemistry/1-10.1007_s00253-007-1256-6-1

2.5 การออกแบบการทดลอง (http://www.kmitl.ac.th/~kskallay/pdf/rsm-ccd(R).pdf)

การออกแบบการทดลองเป็นการออกแบบเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเหมาะสม (optimization) โดยอาศัยแบบจำลองหรือสมการทางคณิตศาสตร์มาอธิบายความสัมพันธ์ของปัจจัยแต่ละปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยสามารถทำการศึกษาผลของปัจจัยหลาย ๆ ปัจจัยไปพร้อมกันได้ในเวลาเดียวกันแต่ใช้จำนวนการทดลองน้อยกว่าการศึกษาแบบทีละปัจจัย การออกแบบการทดลองจึงเป็นการเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลง input (factors) อย่างมีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ output (response) ที่เกิดขึ้น โดยปัจจัย (factors) หรือ input (X_1, X_2, X_3) ต่าง ๆ ที่จะส่งผลต่อค่า Y ซึ่งเป็นคุณลักษณะด้านคุณภาพ (quality characteristic) ของกระบวนการในการ

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ออกแบบการทดลองจะมีการทำการทดลองอย่างเป็นระบบเพื่อหาความสัมพันธ์เชิงสถิติของ Y และ X ต่าง ๆ โดยใช้ทรัพยากรหรือวัตถุดิบในการทดลองให้มีประสิทธิภาพมากที่สุด โดยความสัมพันธ์เชิงสถิติที่ได้จะทำให้ทราบถึงกระบวนการเพื่อนำไปปรับปรุงและพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

สำหรับวิธีการและการออกแบบพื้นผิวตอบสนองมีด้วยกันหลายวิธี เช่น

1. Factorial in CRD or RBD design
2. Fractional factorial in CRD or RBD design
3. Rotatable design
4. Central composite design (CCD) เป็นต้น

วิเคราะห์สมการความสัมพันธ์ (Regression analysis) แบ่งเป็น 2 แบบ

1. Simple linear regression
2. Multiple linear regression

ในงานวิจัยนี้ได้ใช้การออกแบบการทดลองแบบ Central composite design (CCD) หรือการออกแบบส่วนประสมกลาง โดยทั่วไปการออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียล (Experiment of factorial design) มีอยู่ด้วยกันหลายแบบ

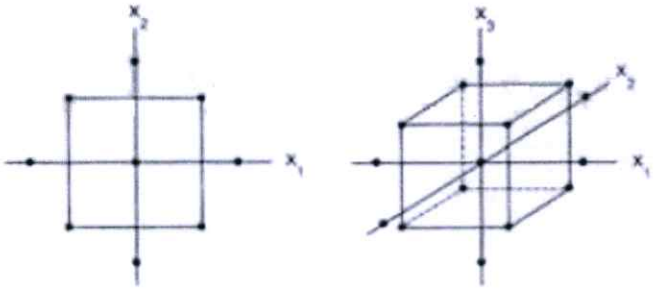
1. การออกแบบเชิงแฟกทอเรียล 2 ปัจจัย เป็นการออกแบบที่ง่าย และเกี่ยวข้องกับปัจจัย 2 ปัจจัย เช่น ปัจจัย A และปัจจัย B โดยปัจจัย A จะประกอบด้วย a ระดับ และปัจจัย B ประกอบด้วย b ระดับ โดยการทดลองรวมปัจจัยทั้งหมด a x b การทดลอง

2. การออกแบบเชิงแฟกทอเรียลแบบ 2^k เป็นการออกแบบการทดลองที่มี k ปัจจัย แต่ละปัจจัยประกอบด้วย 2 ระดับการทดลอง ซึ่งระดับเหล่านี้อาจเกิดจากข้อมูลเชิงปริมาณ หรือข้อมูลเชิงคุณภาพ เช่น 2 ระดับแทนด้วยระดับสูงและต่ำของปัจจัยหนึ่ง ๆ เมื่อมีปัจจัยเป็นจำนวนมากที่ต้องการตรวจสอบ การออกแบบการทดลองเช่นนี้จึงทำให้เกิดการทดลองจำนวนน้อยที่สุดที่สามารถจะทำได้

3. การออกแบบเชิงแฟกทอเรียลแบบ 3^k เป็นการออกแบบการทดลองที่มี k ปัจจัย แต่ละปัจจัยประกอบด้วย 3 ระดับการทดลอง ได้แก่ ระดับต่ำ ระดับกลางและระดับสูง ซึ่งอาจมีการใช้สัญลักษณ์แทนระดับปัจจัยทั้ง 3 เช่น -1, 0, 1 พบว่าการออกแบบการทดลองด้วยวิธีนี้จะมีระดับปัจจัยอื่นๆ เพิ่มเข้ามาในแบบจำลอง ทำให้สามารถแสดงความความสัมพันธ์ระหว่างผลตอบสนอง และปัจจัยที่ทำการศึกษาในลักษณะที่เป็นสมการควอดราติกได้

โดยงานวิจัยนี้ได้เลือกออกแบบการทดลองเชิงแฟคทอเรียลแบบ 3^k ใช้โปรแกรม JMP ในการออกแบบการทดลองจากนั้นนำผลการทดลองที่ได้มาสร้างเป็นรูปแบบโครงสร้างซึ่งเป็นหนึ่งในวิธีการหาพื้นที่ผิวเพื่อหากระบวนการที่เหมาะสม โดย k คือ จำนวนปัจจัยที่ทำการศึกษา เช่น k = 2 และ k = 3 ดังแสดงในรูปที่ 2.5

123006



(ก) (ข)

รูปที่ 2.5 แสดงการออกแบบส่วนประสมกลาง (CCD) (ก) k =2 (ข) k =3

2.5.1 วิธีการและการออกแบบพื้นผิวตอบสนอง (Response surface method and design, RSM)

ในการศึกษางานวิจัย บางครั้งการทดลองทีละปัจจัย (one factor method) อาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนที่เรียกว่า Trial and error method ยกตัวอย่างเช่น

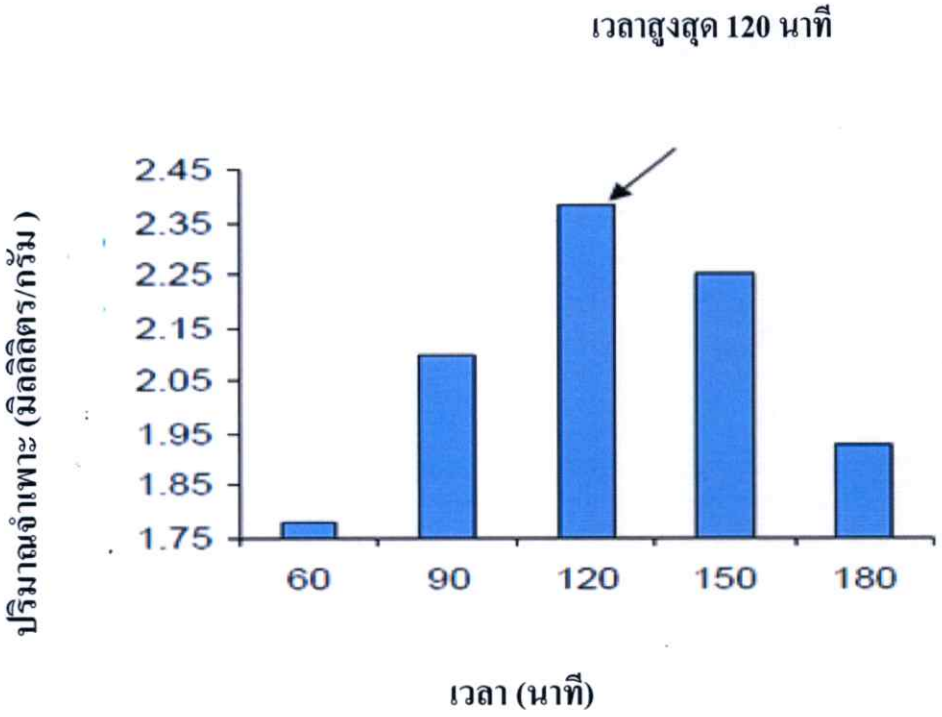
ตัวอย่าง ศึกษากระบวนการผลิตขนมชนิดหนึ่ง โดยปัจจัยที่สนใจคือ อุณหภูมิ และเวลา ในการอบขนม โดยอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 20-40 องศาเซลเซียส และเวลาอยู่ระหว่าง 60 -180 นาที วัดปริมาณจำเพาะ (specific volume) ออกแบบการทดลองโดยทำการศึกษาทีละปัจจัย (one factor method)

1. การทดลองเพื่อศึกษาปัจจัยทางด้านเวลา โดยกำหนดให้ใช้อุณหภูมิคงที่ 25 องศาเซลเซียส

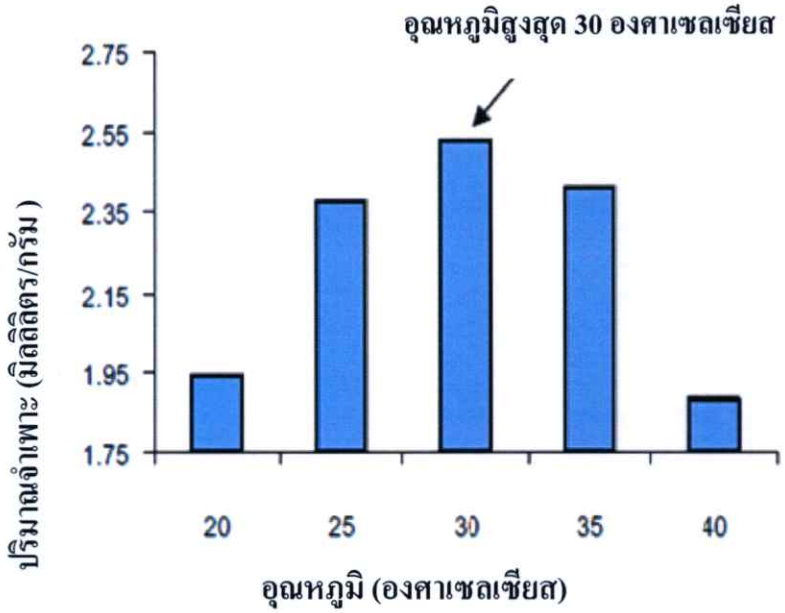
การทดลองที่	1	2	3	4	5
เวลา (นาที)	60	90	120	150	180
ปริมาณจำเพาะ	1.78	2.10	2.38	2.25	1.93

2. การทดลองเพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิโดยกำหนดให้ใช้เวลาคงที่ที่ 120 นาที

การทดลองที่	1	2	3	4	5
อุณหภูมิ($^{\circ}$C)	20	25	30	35	40
ปริมาณจำเพาะ	1.94	2.38	2.38	2.53	1.88

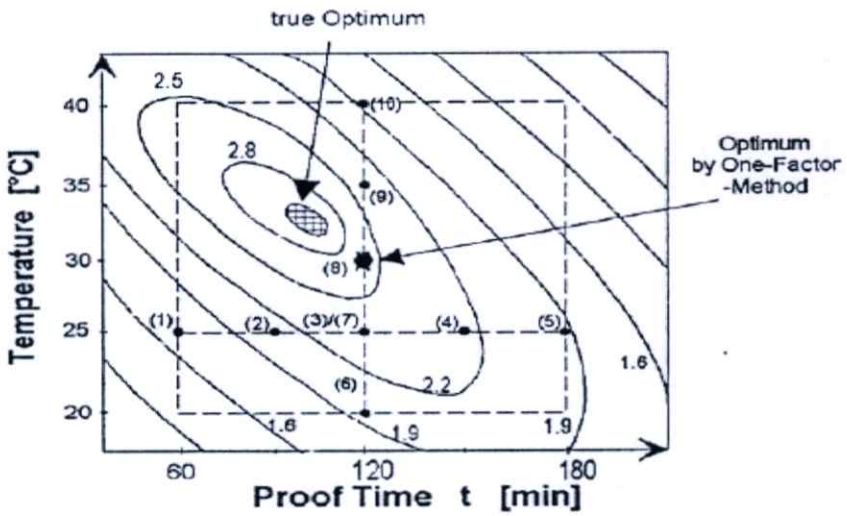


รูปที่ 2.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจำเพาะของขนมปังกับเวลา



รูปที่ 2.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจำเพาะของขนมปังกับอุณหภูมิ

จากการออกแบบการทดลองโดยศึกษาทีละปัจจัย ผลการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่า สภาวะที่เหมาะสมในการอบขนม คือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ เวลาที่เหมาะสมคือ 120 นาที แต่ในการออกแบบการทดลองด้วยวิธีนี้จะเห็นว่า ไม่ได้ทำการศึกษาปฏิกิริยาความสัมพันธ์ระหว่าง อุณหภูมิ และเวลา ที่อาจมีผลต่อกัน เมื่อทำการศึกษาความสัมพันธ์ดังกล่าวสภาวะที่เหมาะสมอาจเป็นอีกสภาวะหนึ่งก็ได้ แสดงดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 แสดงผลการทดลองที่ออกแบบ CCD และแสดงผลการทดลองระบบ RSM โดย k =2

การออกแบบพื้นผิวตอบสนอง (response surface method) เป็นการนำเทคนิคทางคณิตศาสตร์และทางสถิติมาใช้ในการสร้างแบบจำลองและการวิเคราะห์ปัญหา โดยสามารถหาจุดที่เหมาะสม จากความสัมพันธ์ของตัวแปรเหล่านั้นได้

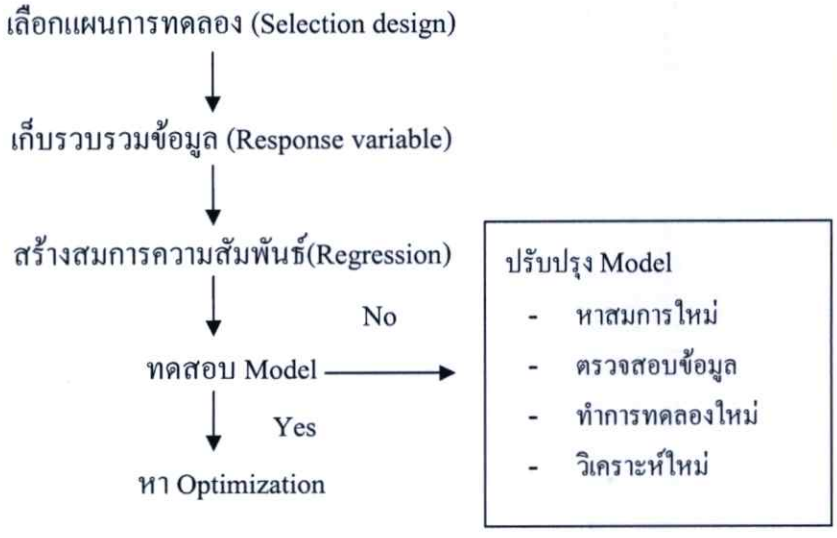
Input variable คือ ตัวแปรต้น หรือปัจจัยเชิงปริมาณ เช่น อุณหภูมิ ความดัน พีเอช

Response variable คือ ค่าผลตอบสนอง เป็นค่าคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ เช่น ผลผลิต ความแข็ง คะแนนความชอบ เป็นต้น

เงื่อนไข (term) ที่ใช้ในระบบ RSM

1. ปัจจัย เช่น เวลา อุณหภูมิ และ ความชื้น
2. ระดับปัจจัย จะใช้ 3 ระดับเท่านั้น
3. Response เช่น ผลผลิต ความหนืด และคะแนนความชอบ เป็นต้น

ขั้นตอนการทำ RSM



2.5.1.1 การวางแผนการทดลองแบบ Central composite design (CCD) ซึ่งมีการกำหนดช่วงปัจจัยที่จะทำการศึกษา แผนการทดลองที่ผ่านการออกแบบโดยโปรแกรม JMP จะขึ้นอยู่กับจำนวนปัจจัย (n) และ ระดับปัจจัยที่ทำการศึกษา ประกอบด้วย

1. จุดกึ่งกลาง คือ center point อยู่ตำแหน่งที่ 0 , 0
2. จุดขอบ คือ axial point อยู่ตำแหน่งที่ $-\alpha$, $+\alpha$
3. จุด factorial point อยู่ตำแหน่งที่ -1, 1

ค่า $-\alpha$, $+\alpha$ หาได้จาก $2^{n/4}$ โดย n = จำนวนปัจจัยที่ทำการศึกษา เช่น ปัจจัย n = 2 ค่า $-\alpha$, $+\alpha$ คือ -1.4142, + 1.4142 ปัจจัย n = 3 ค่า $-\alpha$, $+\alpha$ คือ -1.6818, +1.6818 เป็นต้น

ยกตัวอย่าง ถ้าปัจจัยที่ต้องการศึกษามี 3 ปัจจัย คือ ความชื้น = X_1 , พีเอช = X_2 , อุณหภูมิ = X_3 โดยค่าระดับที่ทำการศึกษา คือ ความชื้นร้อยละ 50 60 และ 70 อุณหภูมิ 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส และ พีเอช 5.5 6.0 และ 6.5 จะได้การทดลองทั้งหมด 20 การทดลอง (design point) ประกอบด้วย จุดกึ่งกลาง คือ (center point) จำนวน 6 จุด จุดขอบ (axial point) จำนวน 6 จุด และ จุด factorial point จำนวน 8 จุด

ตารางที่ 2.6 แสดงช่วงค่าระดับปัจจัยทั้ง 5 ระดับจาก 3 ปัจจัยที่ทำการทดลอง

Treatment	ค่ารหัสปัจจัย			ค่าจริงของปัจจัย		
	X_1	X_2	X_3	X_1	X_2	X_3
1	-1	-1	-1	50	5.5	25
2	-1	-1	+1	50	5.5	35
3	-1	+1	-1	50	6.5	25
4	-1	+1	+1	50	6.5	35
5	+1	-1	-1	70	5.5	25
6	+1	-1	+1	70	5.5	35
7	+1	+1	-1	70	6.5	25
8	+1	+1	+1	78.8	6	30
9	-1.68	0	0	43.2	6	30
10	1.68	0	0	78.8	6	30
11	0	-1.68	0	60	5.16	30
12	0	1.68	0	60	6.84	30
13	0	0	-1.68	60	6	21.6
14	0	0	1.68	60	6	38.4
15	0	0	0	60	6	30
16	0	0	0	60	6	30
17	0	0	0	60	6	30
18	0	0	0	60	6	30
19	0	0	0	60	6	30
20	0	0	0	60	6	30

โดย X_1 = ความชื้น (ร้อยละ), X_2 = พีเอช, X_3 = อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

ตารางที่ 2.7 การวางแผนการทดลองออกแบบโดย Central composite design (CCD) ใช้โปรแกรม JMP ในการหาระดับปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อรา *M. purpureus* TISTR 3090 โดยได้ทำการศึกษา 3 ปัจจัย และ 5 ระดับปัจจัย

ปัจจัย	สัญลักษณ์	รหัสปัจจัย				
		$-\alpha$= -1.682	-1	0	+1	$-\alpha$= -1.682
ความชื้น	X1	43.2	50	60	70	78.8
พีเอช	X2	5.16	5.5	6.0	6.5	6.84
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	X3	21.6	25	30	35	38.4

2.5.1.2 จากนั้นนำค่าจากตารางที่ 2.7 แทนค่าลงในแผนการทดลองตารางที่ 2.6 จะได้ค่าจริงของปัจจัยที่จะใช้ทำการทดลอง จากนั้นนำแผนการทดลองดังกล่าวไปทำการทดลอง นำผลการทดลองที่ได้มาเข้าสมการ regression แสดงดังสมการที่ 2.1

$$Y = b_0+b_1X_1+b_2X_2+b_3X_3+b_{1,2}X_1X_2+b_{1,3}X_1X_3+b_{2,3}X_2X_3+b_{1,1}X^2_1+b_{2,2}X^2_2+b_{3,3}X^2_3+\epsilon \ldots (2.1)$$

Y = ปัจจัยตามที่ต้องการศึกษา

b_0 = สัมประสิทธิ์ค่าคงที่ของสมการ

b_1, b_2, b_3 = สัมประสิทธิ์ของปัจจัยที่ 1 2 และ3

$b_{1,2}$ = สัมประสิทธิ์ของปัจจัยที่ 1 และ2

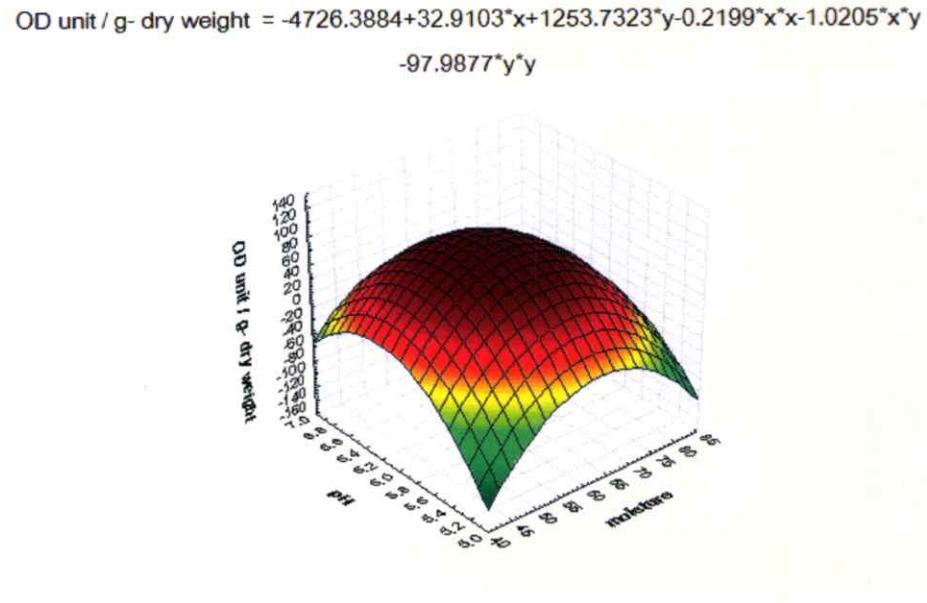
$b_{1,3}$ = สัมประสิทธิ์ของปัจจัยที่ 1 และ3

b_{11}, b_{22}, b_{33} = สัมประสิทธิ์ของนิพจน์กำลังสอง ของปัจจัยที่ 1 2 และ3

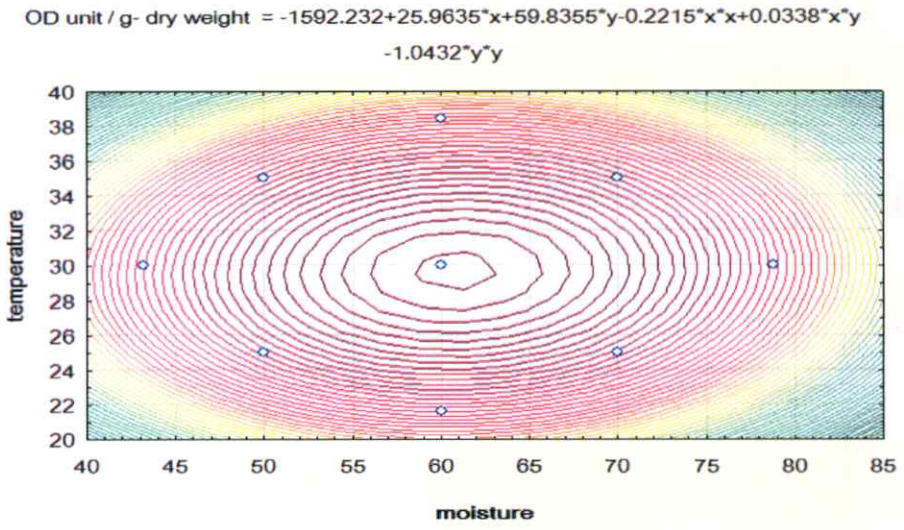
ϵ = ความคลาดเคลื่อนของสมการ

โดยที่ค่า Y คือค่าปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ X_1 คือ ความชื้น, X_2 คือ พีเอช, X_3 คืออุณหภูมิ และ a ,b คือ ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย ที่ได้จากการคำนวณทางสถิติ (regression coefficients)

2.5.1.3 จากนั้นนำค่าที่ได้สร้างเป็นกราฟ 3 มิติ โดยใช้โปรแกรม SAS, Statistica หรือ Sigma plot ต่อไป โดยงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้โปรแกรม Statistica ในการสร้างกราฟ 3 มิติ ซึ่งกราฟ 3 มิติที่ได้จะมีการนำเสนอภาพด้วยกัน 2 แบบ คือ Top view และ Contour plot



รูปที่ 2.9 แสดงตัวอย่างกราฟ 3 มิติ ที่นำเสนอภาพแบบ Top view



รูปที่ 2.10 แสดงตัวอย่างกราฟ 3 มิติ ที่นำเสนอภาพแบบ Contour plot

โดยลูกเดือยที่ได้จากการหมักจะนำไปทำการศึกษาในผลิตภัณฑ์กุนเชียงโดยจะนำไปทดแทนสารไนไตรท์มีเป็นสารเคมีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในกุนเชียงที่วางขายตามท้องตลาด

2.6 ผลิตภัณฑ์กุนเชียง

กุนเชียงมีการผลิตและบริโภคกันมายาวนานในประเทศจีนตั้งแต่ปี ค.ศ. 420 นอกจากประเทศจีนแล้วยังมีการบริโภคกุนเชียงในอีกหลายประเทศ เช่น ไทย มาเลเซีย สิงคโปร์ เป็นต้นโดยในแต่ละพื้นที่มีสูตรการทำกุนเชียงที่แตกต่างกันออกไป ผลิตภัณฑ์กุนเชียงนอกจากจะทำจากเนื้อหมูแล้วยังมีการนำเนื้อแพะ และเนื้อกวางมาทำได้อีกด้วย โดยกุนเชียงต้นตำหรับจากประเทศจีนนั้นจะทำมาจากเนื้อหมูบดหยาบๆ และมันหมู ผสมกับน้ำตาล เกลือ ซอสถั่วเหลือง เหล้าจีน โปร-แทสเซียมไนไตรท์ และเครื่องเทศ เช่น ยี่หร่า อบเชย กานพลู โดยส่วมผสมที่ได้จะนำมายัดใส่ไส้หมู ให้มีขนาดยาวประมาณ 15 เซนติเมตร และมีการเจาะรูเล็กๆให้ทั่ว เพื่อให้น้ำและอากาศระเหยออกในระหว่างกระบวนการทำแห้ง ซึ่งใช้เวลาประมาณ 3 - 4 วัน จากนั้นนำมาตากไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 - 3 วัน เพื่อให้ความชื้นสมดุลย์ กุนเชียงโดยทั่วไปสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 1 - 3 เดือน

ต่อมาได้มีการพัฒนาสูตรกุนเชียงให้มีความคงตัว และยืดอายุการเก็บรักษา โดยการใช้สารกันเสีย (preservative) ซึ่งสารกันเสียบางชนิดจะเข้าไปลดค่าวอเตอร์แอกติวิติในผลิตภัณฑ์ สารกันเสียที่นิยมใช้ได้แก่ กรดซอบิค (sorbic acid) กรดโพรพิโอนิค (prionic acid) ไนไตรท์ (nitrite) และไนเตรต (nitrate) โดยสารเหล่านี้จะไปมีผลต่อการลดค่าวอเตอร์แอคติวิติในผลิตภัณฑ์กุนเชียงและไปมีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และเชื้อรา (Louis และคณะ. 1987)

สำหรับผลิตภัณฑ์กุนเชียงในประเทศไทยนั้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีการผลิตเพื่อการบริโภคและจำหน่ายมากชนิดหนึ่งในประเทศไทย เยาวลักษณ์ สุรพันธพิสิษฐ์ (2536) กล่าวว่า กุนเชียงที่มีคุณภาพดีและเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคนั้นจะต้อง มีสีสันที่สวยงาม มีความคงตัวของผลิตภัณฑ์ สามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลานานพอสมควรโดยไม่เกิดการหืนและเน่าเสีย อันเนื่องมาจากการเสื่อมเสียของไขมันและโปรตีน ผลิตภัณฑ์มีความนุ่มและชุ่มฉ่ำมองดูน่ารับประทาน ซึ่งส่วนประกอบที่ใช้ในผลิตภัณฑ์กุนเชียงก็มีผลต่ออายุการเก็บรักษาได้แก่

เกลือ บทบาทของเกลือต่อผลิตภัณฑ์คือ ลดประมาณน้ำในผลิตภัณฑ์ และทำให้แรงดันออสโมติกของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป ค่าวอเตอร์แอคติวิติลดลงมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และป้องกันการเน่าเสีย

น้ำตาล ป้องกันน้ำบางส่วนจากผลิตภัณฑ์ถูกดึงออกมาทำให้ความชื้นไม่สูญเสียไป ทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติไม่แห้งแข็ง และยังช่วยเร่งการเปลี่ยนโซเดียมไนไตรท์ให้เป็นไนตริกออกไซด์ได้เร็วขึ้น

ไนไตรท์และไนเตรต ส่วนใหญ่นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียมไนไตรท์บทบาทที่สำคัญคือช่วยให้สีแดงและรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีสันที่สวยงามน่ารับประทาน โดยจะให้กลิ่นที่ดีในผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นกลิ่นที่ดีกว่าการใช้เกลือเพียงอย่างเดียว นอกจากนั้นยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และป้องกันการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์

2.7 บทบาทของไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

(http://www.foodnetworksolution.com/vocab/wordcap/nitrite)

เกลือไนไตรท์นิยมใช้ในรูปโซเดียมไนไตรท์ (sodium nitrite) หรือโปแทสเซียมไนไตรท์ (potassium nitrite) เป็นวัตถุเจือปนอาหารที่รู้จัก และใช้กันมานาน เป็นส่วนผสมในการหมักเนื้อ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีสวยขึ้น กลิ่นรสดีขึ้น และช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Gill และ Holley. 2003) ซึ่งเมื่อไนไตรท์แตกตัวจะได้ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) เมื่อไนตริกออกไซด์ทำปฏิกริยากับไมโอโกลบิน (myoglobin) จะเกิดสารประกอบไนโตรโซไมโอโกลบิน (nitrosomyoglobin) เป็นสารที่ช่วยให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดงที่คงตัว (Honikel. 2008) ซึ่งสารประกอบไนตริกออกไซด์โดยสาร ดังกล่าวยังสามารถยับยั้งกระบวนการ phosphoroclastic ใน *Clostridium sporogenes* มีผลทำให้การสร้างพลังงานในรูป ATP ลดลง ทำให้มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ขณะเดียวกันไนตริกออกไซด์เป็นสารประกอบที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดงที่มีความคงตัว และ เกิดกลิ่นรสจึงนิยมใช้ไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Jay และ Golden. 2005)

2.7.1 บทบาทของเกลือไนไตรท์และไนเตรท ต่อการเกิดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อ

มีผลเนื่องจากการแตกตัวให้สารไนตริกออกไซด์ ทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบินดังปฏิกิริยาตามขั้นตอนดังนี้ (Honikel. 2008)

ขั้นตอนที่ 1

แบคทีเรียที่รีดิวส์ไนไตรท์ได้

NO_3^- ——————————→ NO_2^-

ไนเตรท ดึงออกซิเจนออกไป ไนไตรท์

ขั้นตอนที่ 2 แบคทีเรียพวกที่ผลิตกรดแลคติก

$NO_2^- + H^+$ ——————————→ HNO_2

ไนไตรท์ อนุมูลไฮโดรเจน กรดไนตรัส

ขั้นตอนที่ 3

HNO_2 ——สลายตัว——→ $NO + H_2O$

กรดไนตรัส ไนตริกออกไซด์ น้ำ

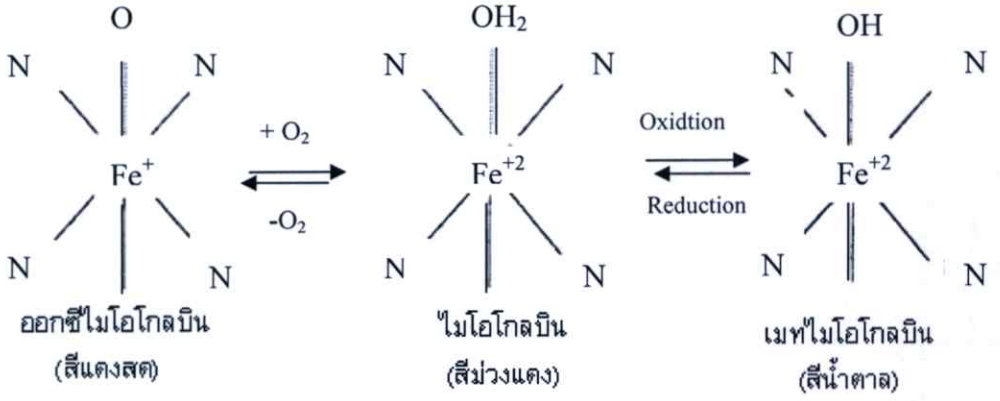
ขั้นตอนที่ 4

Myoglobin ——ออกซิเจนในอากาศ——→ Metmyoglobin

ไมโอโกลบิน เมทไมโอโกลบิน

(สีแดง) (สีน้ำตาลแดง)

ไมโอโกลบินเปลี่ยนเป็นเมทไมโอโกลบิน จะเกิดขึ้นเมื่อเหล็กในฮีมเปลี่ยนจากเฟอร์รัส (ferrous) เป็นเฟอร์ริก (ferric) เนื่องจากเหล็กถูกเติมออกซิเจนจากอากาศ จึงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง ปฏิกิริยาดังกล่าวไม่ได้ทำให้รสชาติของเนื้อเสียไป แต่มองดูไม่น่ารับประทานเท่านั้น ดังแสดงในรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 แสดงการเปลี่ยนแปลงจากออกซีไมโอโกลบินเป็นเมทไมโอโกลบิน

ที่มา : ดัดแปลงจาก วัฒนี บุญวิทยา. (2542).

ขั้นตอนที่ 5

NO + MMb ——→ NOMb (nitrosomyoglobin)

ไนตริกออกไซด์ เมทไมโอโกลบิน ไนโตรโซไมโอโกลบิน

ไมโอโกลบิน เกิดเป็นสารสีแดงที่เรียกว่า ไนโตรโซไมโอโกลบิน (nitrosomyoglobin) ซึ่งไม่เสถียรโดยจะเปลี่ยนกลับไปเป็นไมโอโกลบินและเมทไมโอโกลบินได้เสมอ

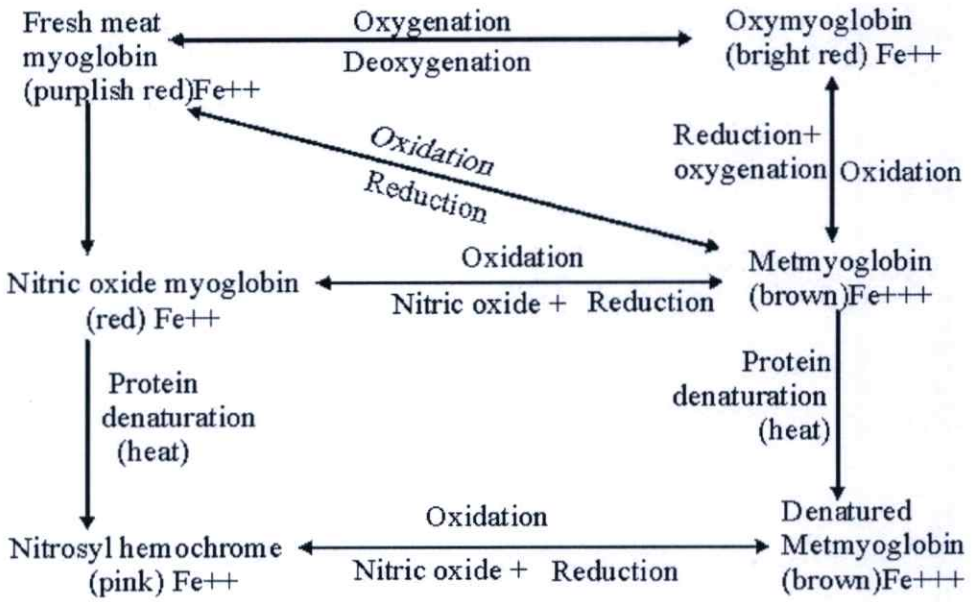
ขั้นตอนที่ 6 ความร้อนในการอบและรมควัน

NOMb (nitrosomyoglobin) ⟶ NO – Hemochome (nitrosohemochome)

ไนโตรโซไมโอโกลบิน ไนโตรโซฮีโมโครม

(สารให้สีชมพูที่คงตัว)

แต่หากให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 54 - 60 องศาเซลเซียส ไนโตรโซไมโอโกลบินจะเปลี่ยน เป็นสาร สีชมพูที่คงทนที่เรียกว่า ไนโตรโซฮีโมโครม (nitrosohemochome) ซึ่งเป็นสีชมพูที่คงตัวของผลิตภัณฑ์เนื้อทั่วไป ดังนั้นบทบาทของไนไตรท์ในการเกิดสารสีแดงในผลิตภัณฑ์เนื้อโดยรวมแสดงดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.12 บทบาทของไนไตรท์ในการเกิดสารสีแดงในผลิตภัณฑ์เนื้อ

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/vocab/word/1298.

2.7.2 อันตรายของไนไตรท์และข้อจำกัดของปริมาณการใช้

อย่างไรก็ตาม การใช้ไนไตรท์มีการจำกัดปริมาณการใช้เพราะทั้งไนเตรทและไนไตรท์เป็นพิษต่อร่างกายเมื่อบริโภคในปริมาณมากเกินไป โดยเฉพาะไนไตรท์พิษแรงกว่าไนเตรทเพราะเมื่อซึมผ่านลำไส้เข้าสู่กระแสโลหิตแล้วจะไปออกซิไดส์ฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงกลายเป็น เมทไมโอโกลบิน (metmyoglobin) ซึ่งจะทำให้เม็ดเลือดแดงนั้นหมดสภาพไม่สามารถลำเลียงออกซิเจนได้อีก

นอกจากพิษอันเนื่องมาจากไนเตรทและไนไตรท์โดยตรงแล้ว ยังพบว่าสารประกอบดังกล่าวจะทำให้เกิดสารประกอบที่เรียกว่าไนโตรซามีน (nitrosamine) ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง (Osterlie และLerfall. 2005) ดังนั้นการใช้สารไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์อาหารจึงมีข้อกำหนดโดยในสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้ในรูป โซเดียมหรือโปแทสเซียมไนไตรท์ โดยอนุญาตให้ใช้ได้ไม่เกิน 200 พีพีเอ็ม (Ricke และคณะ. 2007)

ในขณะที่ประเทศญี่ปุ่น อนุญาตให้ใช้ได้ไม่เกิน 70 พีพีเอ็ม ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ สำหรับในประเทศไทย ประกาศกระทรวงสาธารณะสุขฉบับที่ 281 (พ.ศ. 2547) อนุญาตให้ใช้โซเดียมไน-ไตรท์ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของวัตถุดิบ และโซดียมไนเตรทไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของวัตถุดิบ

จากอันตรายที่กล่าวมาทำให้เห็นความสำคัญในการลดปริมาณการใช้ไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์อาหารลง แต่ก็ยังมีความสำคัญบางประการที่ทำให้ไม่สามารถงดการใช้สารไนเตรตหรือไนไตรท์ได้ทั้งหมด เนื่องจากสารไนไตรท์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้โดยสามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษของเชื้อ *Clostridium botulinum* ได้ ด้วยเหตุผลดังกล่าวงานวิจัยนี้จึงได้มีแนวความคิดในการลดการใช้ไนไตรท์ลงบางส่วนจากนั้นนำสารสีที่ผลิตได้จากเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 มาทดแทนลงไปในผลิตภัณฑ์กุนเชียง โดยก่อนทำการเติมสารสีแดงที่ผลิตได้ลงไปจะมีการทดสอบหาปริมาณอะฟลาทอกซินก่อน เพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ได้มีความปลอดภัยแต่ยังคงความสวยงามน่ารับประทานของผลิตภัณฑ์และเป็นทางเลือกสำหรับผู้ที่ใส่ใจสุขภาพ

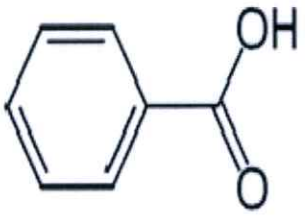
2.8 สารกันบูด

สารกันบูด (Preservatives) หรือ เรียกอีกชื่อหนึ่งว่าวัตถุกันเสีย คือวัตถุเจือปนอาหาร เป็นสารเคมีที่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา ช่วยในการถนอมอาหารและช่วยชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของอาหารวัตถุกันเสียที่นิยมใช้ในอาหารที่เป็นกรดอ่อน เช่น กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอท เพราะมีราคาถูกและไม่ทำให้รสชาติอาหารเปลี่ยน นิยมเติมลงในเครื่องดื่มต่างๆ เช่น น้ำผลไม้ ซอส ผักดอง แยม เยลลี่ ผลไม้แช่อิ่ม และเครื่องแกงสำเร็จรูป สำหรับวัตถุกันเสียจำพวกกรดโปรปีโอนิก และเกลือโปรปีโอเนตเหมาะสำหรับใช้ป้องกันการเจริญของเชื้อ

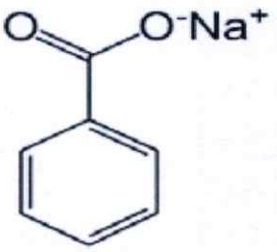
รา และการเกิดเมือกในโด (dough) หรือแป้งขนมปังที่ผ่านการนวดแล้ว จึงเหมาะที่จะใช้ในอาหารประเภทขนมปัง เค้ก และเนยแข็งชนิดต่างๆ ส่วนกรดซิตริกเป็นส่วนประกอบของผลไม้สามารถป้องกันแบคทีเรียและยีสต์ได้ดี เหมาะสำหรับใส่ในเครื่องดื่ม น้ำหวาน น้ำอัดลม เยลลี่ แยม เป็นต้น สำหรับผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ทำการศึกษามีการใช้โซเดียมเบนโซเอตในการศึกษาอายุการเก็บรักษา

2.8.1 กรดเบนโซอิก (Benzoic acid มีสูตรทางเคมี, C_6H_5COOH)

กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอต เป็นวัตถุกันเสียที่มีประวัติการใช้มานานในปี พ.ศ.2487 (ค.ศ.1875) ได้ใช้กรดเบนโซอิกเพื่อทดแทนการใช้กรดซาลิซิลิก กรดเบนโซอิกนี้สามารถพบได้ตามธรรมชาติ เช่น ลูกพรุน แครนเบอรี่ อบเชย และกานพลู



กรดเบนโซอิก



โซเดียมเบนโซเอต

รูปที่ 2.13 สูตรโครงสร้างของกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอต

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/vocab/wordcap/benzoic%20acid

กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอตจะทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงที่สุดที่ช่วงความเป็น กรดด่าง 2.5-4.0 และจะมีประสิทธิภาพสูงในรูปของกรดที่ไม่แตกตัวจึงเหมาะที่จะใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความเป็นกรดสูง หรือมีความเป็นกรดด่างต่ำ ซึ่งวัตถุกันเสียชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ ซึ่งมีผลต่อผนังเซลล์และเอนไซม์ของจุลินทรีย์ โดยโซเดียมเบนโซเอต จะไปทำให้กระบวนการแทรกซึมของอาหารเข้าไปในเซลล์ของจุลินทรีย์ผิดปกติไป ในขณะเดียวกันจะยับยั้งการสร้างเอนไซม์บางชนิดและปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ ที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีพของจุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

2.9 สารลดความหืน

วัตถุกันหืน หมายถึงสารที่ใช้เพื่อชะลอการเสียของอาหาร อันเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งลักษณะของการเสียเนื่องจากปฏิกิริยารวมถึงการเสื่อมคุณภาพของอาหาร การหืน อาหารมีสีผิดปกติ กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเปลี่ยนแปลงไป คุณค่าทางอาหารลดลง และบางครั้งอาจมีสารที่เป็นอันตรายต่อร่างกายเกิดขึ้นด้วย เป็นต้น เมื่อเติมวัตถุกันหืนลงไปในอาหารที่มีไขมัน และน้ำมันเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย วัตถุกันหืนจะไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นแบบลูกโซ่หยุดไปด้วย

เมื่ออนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ทำปฏิกิริยากับวัตถุกันหืน ที่เติมลงไปจะเหลืออนุมูลของวัตถุกันหืน ซึ่งเกิดปฏิกิริยา ได้ช้ากว่าอนุมูลอิสระมาก และเปลี่ยนเป็นสารประกอบที่คงตัว สำหรับวัตถุกันหืนที่นิยมใช้กันทั่วไปในอาหาร ได้แก่ บีเอชเอ (butylated hydroxy anisol, BHA) บีเอชที (butylated hydroxy toluene, BHT) ทีบีเอชคิว (tertiary butyl hydro quinone, TBHQ) โพรพิลแกลเลต (propyl gallate, PG) แอลคอร์บิล พาร์มิเทค (ascorbyl parmitate) ไอโซแอสคอร์บิค และโซเดียมไฮโซแอสคอร์เบต (isoascorbie และ isoascorbate) และโทโคฟีรอล (tocopherol) เป็นต้น วัตถุกันหืนจะมีประสิทธิภาพดีเมื่อมีค่าออกซิเดชันรีดักชันโพเทนเชียล (oxidation-reduction potential) ต่ำกว่า 0.7 ประสิทธิภาพของวัตถุกันหืนด้วย นอกจากนี้จะต้องคำนึงถึงความสามารถในการละลาย และการกระจายตัวได้ดีในอาหาร ข้อดีของบีเอททีคือ ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ไม่มีรส และไม่ทำให้เกิดกลิ่น รส และสี ที่ไม่ดีขึ้นในอาหาร มีราคาถูก เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการป้องกันการเกิดออกซิเดชันด้วยวิธีอื่น

2.9.1 บีเอชที

เป็นวัตถุกันหืนอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้กัน เช่น เดียวกับบีเอชเอ แต่มีประสิทธิภาพดีกว่าเล็กน้อย และให้กลิ่นฟีนอล (phenol) เช่นเดียวกัน มักนิยมให้ผสมกับวัตถุกันหืนชนิดอื่น เพื่อเสริมให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นนิยมใช้ในอาหารประเภท ไขมันสัตว์ น้ำมันพืช ผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์ปลา และน้ำมันหอมระเหย ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 อนุญาตให้ใช้ได้เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยอาจจะใช้เพียงอย่างเดียว หรือใช้รวมกับวัตถุกันหืนชนิดอื่นที่กำหนดไว้ แต่ปริมาณแกลเลตต้องไม่เกิน 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของอาหาร โดยประสิทธิภาพของบีเอชทีเพิ่มขึ้น ถ้าปริมาณบีเอชทีเพิ่มขึ้น

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กิติศาสตร์ และคณะ (2009) ได้ทำการศึกษาผลของสารสี *Monascus* จากปลายข้าวในการยับยั้งการหืนในผลิตภัณฑ์กุนเชียงหมูในถุงพลาสติกโพลีโพไพรีน (polypropylene) เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง พบว่าในระหว่างการเก็บรักษากุนเชียงหมูที่ผสมสารสี และไนไตรท์มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์และราไม่เกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน และได้รับคะแนนความชอบสูงสุด

Babitha และคณะ (2007) ศึกษาการผลิตสารสีโดยเชื้อ *Monascus* sp. บนเม็ดขนุนในสภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง พบว่าจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อชนิดนี้ใช้ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง 30 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 9×10^4 สปอร์ต่อกรัมของสับสเตรทและระยะเวลาในการเลี้ยง 7 วัน จากสภาวะดังกล่าวข้างต้น เชื้อผลิตสารสีได้ 25 ยูนิต /อาหารหมัก 1 กรัม สารสีที่ผลิตได้มีความคงตัวที่ พีเอช ในช่วงกว้าง และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอาหารได้

Pattanagul และคณะ (2008) ศึกษา เมวิโนลิน (mevinolin) ซิตรินิน (citrinin) และสารสีจากลูกเดือยที่หมักด้วยเชื้อ *Monascus* sp. พบว่าการนำลูกเดือยมาใช้เป็นสับสเตรทในการหมักของ *Monascus* sp. สามารถนำลูกเดือยที่ได้จากการหมักเป็นสารให้สีตามธรรมชาติและเป็นสารเพิ่มคุณค่าทางอาหาร อย่างไรก็ตามในการหมักของเชื้อชนิดนี้ นอกจากจะได้สารที่มีประโยชน์ เช่นเมวิ-โนลิน และสารสีแล้วยังมีการสร้างสารพิษที่เรียกว่าซิตรินิน อีกด้วย ในการศึกษานี้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Monascus purpureus* ATCC16365, BCC 6131, DMKU และ FTCMU รวมทั้ง *Monascus rubber* TISTR3006 บนลูกเดือย และศึกษาการสร้างสาร เมวิโนลิน ซิตรินิน สารสี และสารกลูโคซามีน โดยหมักลูกเดือยที่อุณหภูมิห้อง (32-35 องศาเซลเซียส) นาน 28 วัน ผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของกลูโคซามีนแสดงถึงการเจริญของเชื้อราและมีความสัมพันธ์กับปริมาณ เมวิโนลิน ซิตริ-นิน และสารสีที่เชื้อชนิดนี้สร้างขึ้นมา *M. purpureus* DMKU สร้างสารซิตรินินได้ต่ำสุดคือ 0.26 พีพีเอ็ม และมีปริมาณเมวิโนลิน สูงสุดคือ 25.03 พีพีเอ็ม ขณะที่ความเข้มข้นของสารสีเหลือง สีแดงส้ม และสีแดง แสดงในรูปการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 400 470 และ500 นาโนเมตร ตามลำดับ และมีค่า 9.76 3.08 3.43 ยูนิต ตามลำดับ สำหรับลูกเดือยที่ได้จากการหมักมีความชื้นร้อยละ 83.51 พีเอช 6.54 จากการทดลองนี้พบว่าเชื้อ *M. purpureus* DMKU เป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพเพียงพอที่จะนำมาหมักบนลูกเดือยและได้ปริมาณสารซิตรินินอยู่ในระดับที่มาตรฐานกำหนดไว้

Georgantelis และคณะ (2007) ศึกษาผลของสารสกัดโรสแมรี ไคโตซาน และ α - tocopherol ต่อการเจริญของจุลินทรีย์และปฏิกิริยา ลิปิดออกซิเดชัน ของไส้กรอกหมูที่เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่า จากการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ เช่น *Enterobacteriaceae* , *Pseudomonas* spp. จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา รวมทั้งแบคทีเรียแลคติก และมีการวัด

พีเอช ปฏิกิริยา lipid oxidation มีการวัดในรูปของ peroxide value (PV) ความเข้มข้นของมาโลนัลไดอัลดีไฮด์(malonaldialdehyde concentration, MDA) ไคโตซานที่เติมมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ขณะที่จำนวนจุลินทรีย์ต่ำสุดจะได้จากตัวอย่างไส้กรอกที่มีทั้งไคโตซานและโรสแมรี่ แสดงให้เห็นว่าไคโตซานและโรสแมรี่มีผลร่วมกันในการลดการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นการใช้ไคโตซานร่วมกับสารสกัดโรสแมรี่ทำให้ไส้กรอกมีฤทธิ์ต่อต้านการเจริญของจุลินทรีย์และมีฤทธิ์ต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงสุด

Lui และคณะ (2010) ศึกษาผลของการเติมข้าวแดงต่อคุณภาพของกุนเชียงที่มีสารไนไตรท์ต่ำ พบว่าจากการนำข้าวแดงที่หมักจากเชื้อ *Monascus purpureus* เติมลงในกุนเชียงที่มีไนไตรท์ต่ำ องค์ประกอบทางเคมีและค่า a_wของกุนเชียงไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก ค่าสีวัดในรูปของ L* a* และb*ในกุนเชียงที่มีไนไตรท์ต่ำคือ 25 พีพีเอ็ม และเติมข้าวแดงร้อยละ 0.5 มีค่าสีไม่แตกต่างทางสถิติกับกุนเชียงที่เติมไนไตรท์สูงคือ 100 พีพีเอ็ม สีของกุนเชียงที่ไม่เติมข้าวแดงมีสีแดงสดขณะที่กุนเชียงที่เติมข้าวแดงมีสีแดงคล้ำ การเติมข้าวแดงไม่สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน กุนเชียงที่เติมข้าวแดงมีปริมาณ volatile basic nitrogen (VBN) สูงกว่ากุนเชียงที่ไม่เติมข้าวแดง การเติมข้าวแดงมีผลทำให้การย่อยสลายไนไตรท์ช้าลง ปริมาณจุลินทรีย์ในกุนเชียงที่เติมข้าวแดงมีปริมาณสูงกว่ากุนชียงชุดควบคุม จากการทดลองนี้พบว่ากุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ต่ำโดยเติมข้าวแดงร้อยละ 1.5 เมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน ยังสามารถยอมรับได้

Yang และคณะ (2005) ได้ทำการเลี้ยงเชื้อรา *Monascus purpureus* โดยใช้วัตถุดิบ 2 ชนิด คือลูกเดือยที่ผ่านการขัดสี และลูกเดือยที่เอาเปลือกออก หลังจากทำการเลี้ยงจะได้ผลิตภัณฑ์คือลูกเดือยสีแดง เมื่อนำลูกเดือยสีแดงไปวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารพบว่า ลูกเดือยที่เอาเปลือกออก มีโปรตีนสูงและคาร์โบไฮเดรตต่ำกว่าในลูกเดือยสีแดงที่ผ่านการขัดสี แต่ไม่มีความแตกต่างกันในเรื่องของปริมาณ เถ้า ไขมัน และเส้นใย เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน และวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร 3 เดือนแรก พบว่า coixenolide, monacolin K และ γ-aminobutyric acid ในลูกเดือยทั้ง 2 ชนิด อยู่ในช่วง 532 - 540 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม , 1.05 - 1.13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 489 - 497 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม แต่หลังจากทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าสารดังกล่าวมีปริมาณลดลงอยู่ในช่วง 487 - 497 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม, 0.71 - 0.84 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 397 - 419 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 มีอายุการเก็บรักษา 3 เดือน เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

Silveira และคณะ (2008) ศึกษาการผลิตสารสีจาก*เชื้อ M. purpureus* จากกากองุ่นในสภาวะอาหารเหลว มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีโดยวางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียลและใช้ Response surface method (RSM) ปัจจัยที่ศึกษามีดังนี้ ความเข้มข้นของกากองุ่นซึ่งใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ความเข้มเข้นของเปปโตน และความเข้มข้นของโมโนโซเดียมกลูตา-เมต จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของเปปโตนเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดในการผลิตสารสี การเติม โมโน-

โซเดียมกลูตาเมต มีผลให้การผลิตสารสีเพิ่มขึ้น แต่ต้องใช้ร่วมกับความเข้มข้นของเปปโตนความเข้มข้นสูง สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีคือ ใช้เปปโตน 20 - 22.5 กรัมต่อลิตร การนำการอุ่นซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ในการผลิตสารสี นอกจากจะเป็นการเพิ่มมูลค่าทางอุตสาหกรรมแล้วยังเป็นการจัดการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

- เชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 ได้รับการอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar slant (PDA)

3.2 วัตถุดิบ

3.2.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตสารสีแดง

- ลูกเดือยข้าวเหนียว (*Coix lacryma-jobi*) ตราท็อปซ์ ซื้อที่ท็อปซ์ซุปเปอร์มาร์เก็ต ลูกเดือยที่ได้นำมาล้างทำความสะอาด จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.2.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตกุนเชียง

- หมูเนื้อแดง
- มันแข็ง
- ผงพะโล้
- น้ำตาล
- เกลือ
- ไส้หมูเทียม
- ไนไตรท์

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 93-98
- กรดบอริกร้อยละ 4
- กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล
- โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 45
- Mix indicator คือ เมทิลเรด และ เมทิลินบลู
- Catalyst mixture คือ คอปเปอร์ซัลเฟต กับ โปแทสเซียมซัลเฟต
- ปิโตรเลียมอีเทอร์ จุดเดือด 35 ถึง 60 องศาเซลเซียส

- แอลกอฮอล์ร้อยละ 95
- กรดไทโอบาบิทูริก (TBA) ร้อยละ 0.0375
- กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.25 นอร์มอล
- อะซิทิลอะซิโตน (Acetyl acetone)
- เออร์ลิท (Ehrlich)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์
- กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)
- ทวีน 80 (Tween 80)

3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- ตู้ถ่ายเชื้อ (laminar air flow) Hermle; Z383K, Germany
- ตู้บ่มเชื้อ รุ่น MEMMERT Model INB500
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven) รุ่น MEMMERT Model 600
- ตู้ควัน (Hood)
- ตู้อบแห้ง
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (autoclave) Tomy ; SS-325 , Japan
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- เครื่อง Soxhlet apparatus ชุดกลั่นและชุดย่อยไขมัน
- เตาเผา รุ่น GALLENKAMP
- เครื่องกลั่นรุ่น 1002 (Model 2100, Foss tecator, Sweden)
- เครื่องย่อยรุ่น 1007 พร้อมอุปกรณ์ย่อย (digester) และหลอดย่อย (digester tube)
- ชุดรวมไอกรด (Exhaust system) และ เครื่องดูดสุญญากาศ (Aspirator)
- เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น METLER TOLEDO
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น SHIMADZU UV-1201V
- เครื่องวัด Water activity รุ่นAquaLab Model Series 3 บริษัท Decagoon Devices
- เครื่องวัดสี Minolta , CR-300
- เครื่องตีป่นอาหาร(Stomacher blender) รุ่น BAGMIXER ®w
- เตาไฟฟ้า (Hot plate)
- โถดูดความชื้น (desicators)
- ฐานวางหลอด (Tube stand)

- ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
- บีกเกอร์ 250 และ 500 มิลลิลิตร
- ไมโครปิเปต (Micropipette)
- ถ้วยครูซิเบิล
- หลอดฝาเกลียว
- ปากคีบ
- อุปกรณ์เครื่องแก้ว เช่น จานเพาะเชื้อ ปิเปต
- กระป๋องหาความชื้น (moisture can)
- กระดาษกรองชนิดไร้เถ้า
- จานพลาสติก

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมหัวเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090

ถ่ายเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 ลงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นนำเชื้อราที่ทำการเพาะเลี้ยงมาทำสารแขวนลอยสปอร์โดยใช้น้ำกลั่นที่ผสมทวีน80 ร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และนำสารแขวนลอยสปอร์ที่ได้ไปนับจำนวนสปอร์โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer)ให้ได้เชื้อเริ่มต้น 4.0 x10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการศึกษาต่อไป

3.5.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อ *M. Purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็งทำการวางแผนการทดลองแบบ Central composite design (CCD) แสดงผลโดยวิธี Response surface method (RSM) ด้วยโปรแกรม Statistica

เนื่องจากปริมาณสารสีที่ผลิตได้โดยเชื้อรา *M. purpureus* TISTR 3090 มีปัจจัยที่คาดว่าจะมีอิทธิพลต่อปริมาณสารสี เช่น อุณหภูมิ ความชื้น พีเอช ระยะเวลา เป็นต้น การที่มีปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้องหลายปัจจัยทำให้มีการปรับปรุงปริมาณการผลิตสารสีได้ยาก เนื่องจากไม่ทราบชัดเจนว่าปัจจัยใดที่มีอิทธิพลต่อการผลิตสารสีมากน้อยต่างกัน หรือปัจจัยใดที่ใช้ร่วมกันแล้วมีอิทธิพลต่อกันอย่างไรบ้าง จึงได้ทำการวางแผนการทดลองแบบ Central composite design (CCD) โดยใช้โปรแกรม JMP ทดลอง 3 ซ้ำ โดยกำหนดปัจจัยในการทดลองที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตสารสี คือ ตัวแปรอิสระ (independent variable) และตัวแปรตาม (dependent variable) โดยตัวแปรอิสระคือ ความชื้น (ร้อยละ) พีเอช และ อุณหภูมิ(องศาเซลเซียส) ทำการศึกษาปัจจัยละ 5 ระดับ (-α ,-1 , 0 , 1 , +α) ปัจจัยที่ 1 ความชื้นมีดังนี้ร้อยละ 43.2 50 60 70 และ78.8 ปัจจัยที่ 2 พีเอชมีดังนี้ 5.16 5.5 6.0 6.5 6.84 และปัจจัยที่ 3 อุณหภูมิมีดังนี้ 21.6 25 30 35 และ38.4 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 3.1 แผนการ

ทดลองมีทั้งหมด 20 การทดลอง (ดังตารางที่ 3.2) โดยทำการทดลองพร้อมกันทั้งหมด 20 ชุดการทดลอง จากนั้นนำผลการทดลองที่ได้ไปวิเคราะห์สมการถดถอย (สมการที่ 3.1)
ด้วยโปรแกรม SPSS และนำสมการถดถอยที่ได้มาสร้างกราฟ 3 มิติ โดยวิธี Response surface methodology (RSM) ด้วยโปรแกรม Statistica เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่ให้ปริมาณสารสีสูงสุด

การทดลองทำโดยนำลูกเดือย 50 กรัม เติมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร ต่าง ๆ ดังนี้ 36 , 37 , 50 , 51 , 58 , 65 มิลลิลิตร เพื่อปรับปริมาตรความชื้นเริ่มต้นให้ได้ ร้อยละ 43.2 50 60 70 และ 78.8 จากนั้นนำลูกเดือยมาปรับพีเอช เริ่มต้นโดยกรดไฮโดรคลอริก 1.0 นอร์มอล โดยมีพีเอชดังนี้ 5.16 5.5 6.0 6.5 และ 6.84 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสารละลายสปอร์ของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 ที่เตรียมได้จากหัวข้อ 3.4.1 ปริมาตรร้อยละ 5 (2.5 มิลลิลิตร) นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้ 21.6 25 30 35 และ38.4 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณสารสีที่เชื้อผลิตได้ ตามวิธีของ Tseng และคณะ (2000)

ตารางที่ 3.1 แสดงช่วงค่าระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลอง

ปัจจัย	สัญลักษณ์	รหัสปัจจัย				
		$-\alpha$= -1.682	-1	0	+1	$-\alpha$= -1.682
ความชื้น	X1	43.2	50	60	70	78.8
พีเอช	X2	5.16	5.5	6.0	6.5	6.84
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	X3	21.6	25	30	35	38.4

ตารางที่ 3.2 แผนผังการทดลองเพื่อหาสภาวะและระดับปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อรา *M. purpureus* TISTR 3090

แผนทดลอง	ค่ารหัสของปัจจัย			ค่าจริงของปัจจัย		
	X_1	X_2	X_3	X_1	X_2	X_3
1	-1	-1	-1	50	5.5	25
2	-1	-1	1	50	5.5	35
3	-1	1	-1	50	6.5	25
4	-1	1	1	50	6.5	35
5	1	-1	-1	70	5.5	25
6	1	-1	1	70	5.5	35
7	1	1	-1	70	6.5	25
8	1	1	1	78.8	6	30
9	-1.68	0	0	43.2	6	30
10	1.68	0	0	78.8	6	30
11	0	-1.68	0	60	5.16	30
12	0	1.68	0	60	6.84	30
13	0	0	-1.68	60	6	21.6
14	0	0	1.68	60	6	38.4
15	0	0	0	60	6	30
16	0	0	0	60	6	30
17	0	0	0	60	6	30
18	0	0	0	60	6	30
19	0	0	0	60	6	30
20	0	0	0	60	6	30

โดย X_1= ความชื้น, X_2 = พีเอช, X_3= อุณหภูมิ

จากนั้นนำผลการทดลองที่ได้มาเข้าสมการ Regression

$$Y = b_0+b_1X_1+b_2X_2+b_3X_3+b_{1,2}X_1X_2+b_{1,3}X_1X_3+b_{2,3}X_2X_3+b_{1,1}X^2_1+b_{2,2}X^2_2+b_{3,3}X^2_3+€ \ldots (3.1)$$

Y = ปัจจัยตามที่ต้องการศึกษา

b_0 = สัมประสิทธิ์ค่าคงที่ของสมการ

b_1, b_2, b_3 = สัมประสิทธิ์ของปัจจัยที่ 1 2 และ3

$b_{1,2}$ = สัมประสิทธิ์ของปัจจัยที่ 1 และ2

$b_{1,3}$ = สัมประสิทธิ์ของปัจจัยที่ 1 และ3

b_{11}, b_{22}, b_{33} = สัมประสิทธิ์ของนิพจน์กำลังสอง ของปัจจัยที่ 1 2 และ3

ϵ = ความคลาดเคลื่อนของสมการ

โดยในตารางที่ 3.1 แสดงระดับของปัจจัยตามรหัสที่ให้ไว้ดังนี้ X_1 คือ ความชื้น (ร้อยละ 50 60 และ70) X_2 คือ พีเอช(5.5 6.0 และ 6.5) X_3 คือ อุณหภูมิ (25 30 และ35 องศาเซลเซียส) ตารางที่3.2 แสดงชุดการทดลองทั้งหมดซึ่งมี 20 ชุดการทดลอง

3.5.3 ศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารสีของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็ง

สภาวะที่ใช้ในการศึกษา คือ สภาวะที่ได้จากการทดลองใน หัวข้อที่ 3.4.2 ที่ผลิตสารสีได้สูงสุดมาทำการศึกษาระยะการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการผลิตสารสีแดง โดยการเตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension)ของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 ให้มีปริมาณสปอร์ $4.0x10^5$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ดูดสารแขวนลอยสปอร์ร้อยละ 5 ปริมาณ (2.5 มิลลิลิตร) ลงในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุลูกเดือย 50 กรัม เติมน้ำปลอดเชื้อปริมาตร 50 มิลลิลิตร เพื่อปรับความชื้นเริ่มต้นให้ได้ร้อยละ 61 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 6.00 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 วัน เก็บตัวอย่างทุก ๆ 5 วัน วิเคราะห์ปริมาณสารสีที่เชื้อผลิตได้ ตามวิธีของ Tseng และคณะ (2000) และวัดการเจริญเติบโตของเชื้อโดยวัดในรูปปริมาณเอนอะซิติลกลูโคซามีน ตามวิธีของ Sakura และคณะ (1997)

3.5.4 การวิเคราะห์

3.5.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารสีแดงที่ผลิตได้

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารสีแดงที่ผลิตได้ ใช้วิธีของ Tseng และคณะ (2000) โดยนำลูกเดือยที่ได้จากการหมัก 5 กรัม เติมเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาณ 25มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที กรองด้วยกระดาษกรอง whatman No.1 นำส่วนใสที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร (ใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็น แบลงค์) สำหรับส่วนที่เหลือจากการกรองนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นำมาวางในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก ค่าที่ได้นำมาวิเคราะห์ปริมาณสารสีโดยใช้สูตร

ปริมาณสารสี (A_{500} ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

$$= \frac{A_{500} \text{ ยูนิต X ค่าการเจือจาง X ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ในการสกัด X น้ำหนักวัตถุดิบทั้งหมด}}{\text{น้ำหนักแห้งที่นำมาวัดปริมาณสารสี}}$$

3.5.4.2 การวัดการเจริญเติบโตของเชื้อโดยวัดในรูปปริมาณ เอน-อะซิติลกลูโคซามีน (N- acetylglucosamine) ตามวิธีของ Sakura และคณะ (1997)

โดยนำลูกเดือยที่หมักด้วยเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 0.5 กรัม (น้ำหนักแห้ง) เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำปลอดเชื้อปริมาตร 70 มิลลิลิตร เป็นการเจือจางกรด นำไปเข้าหม้อนึ่งความดันไอที่ 121 องศาเซียลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นและนำไปกรอง นำของเหลวที่ได้ปรับพีเอช 7.0 โดยใช้สารละลาย NaOH จากนั้นนำสารที่ได้มา 1 มิลลิลิตร เติม อะซิติลอะซิโตน 1 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือด 20 นาที ทิ้งให้เย็น เติมเอทานอล 6 มิลลิลิตร และสารเออร์ริช (ehrich) 1 มิลลิลิตร บ่มที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งให้เย็น นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ในการทดลองนี้ใช้น้ำกลั่นแทนสารที่ได้จากตัวอย่างเป็นแบลงค์

3.5.5 วิเคราะห์องค์ประกอบสารอาหารในลูกเดือยที่ได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสม

นำลูกเดือยที่ได้จากการหมักเป็นเวลา 10 วัน มาฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาทำแห้งโดยอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาบดให้เป็นผงโดยใช้โถปั่นไฟฟ้า ร่อนผ่านตะแกรงร่อนเบอร์ 48 ซึ่งจะได้ผงสีแดงที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.29 มิลลิเมตร จากนั้นนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบสารอาหารในลูกเดือยที่ได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสม วิเคราะห์สารอาหาร ดังนี้ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน รวมทั้งแร่ธาตุ และวิตามินบางชนิด เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส วิตามินบี 1 และ วิตามินบี 2 และวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินชนิด บี 1 บี 2 จี 1 และ จี 2 ในลูกเดือยที่ผ่านการหมักเปรียบเทียบกับลูกเดือยที่ไม่ผ่านการหมัก

การวิเคราะห์หาปริมาณ วิตามินบี 1 และบี 2 วิเคราะห์โดยใช้วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography, HPLC) การวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค HPLC ใช้สำหรับแยกสารประกอบที่สนใจที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง โดย กระบวนการแยกสารประกอบที่สนใจจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (column) กับเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) จะถูกแยกออกมาในเวลาที่ต่างกัน ซึ่งสาร ผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้นขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้า กันได้ดีของสารนั้นกับเฟสที่เคลื่อนที่ หรือ เฟสที่อยู่กับที่สารประกอบตัวไหนที่สามารถ เข้ากันได้ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่ สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่ หรือเข้ากันได้ดีกับเฟสอยู่กับที่ ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารที่ถูก แยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด สัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่า โครมาโตแกรม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 1 บี 2 ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมของอะซีโทรไนไตรล์ ต่อ 5 มิลลิโมล โซเดียม-1-ออกเทนซัลโฟเนท ปรับพีเอชเท่ากับ 2.5 ในอัตราส่วน 75 ต่อ 25 โดยปริมาตร ได้กราฟมาตรฐานสำหรับวิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 3 และวิตามินบี 6 มีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น10.0- 100.0, 10.0-100.0, 10.0-

100.0 และ 0.50-50.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ความสัมพันธ์เชิงเส้น (r^2) มากกว่า 0.999 ใช้คอลัมน์รีเวิร์สเฟส C_{18} (4.6 x 250 มิลลิเมตร, 5ไมโครเมตร) ตรวจวัดในช่วงรังสียูวีความยาวคลื่น 210 และ280 นาโนเมตร (Journal of Cereal Science. 2005)

การวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสใช้วิธี ICP-OES ซึ่งเป็นเทคนิคในการวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุ โดยจะทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่มีการเตรียมตัวอย่างในรูปสารละลาย ในขั้นตอนการย่อยตัวอย่างจะใช้วิธี AOAC. (2005) จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างมาเข้าเครื่อง Inductively couples plasma emission spectroscopy (ICP-OES) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัส โดยสารละลายตัวอย่างจะถูกเผาด้วยพลาสมาที่อุณหภูมิสูงประมาณ 6,000-10,000 เซลเซียส อะตอมของแคลเซียมและฟอสฟอรัสเมื่อได้รับพลังงานจากพลาสมา จะทำให้อะตอมเปลี่ยนจากสภาวะพื้น (Ground state) ไปอยู่ในสภาวะกระตุ้น (Excited state)ซึ่งเป็นสถานะที่ไม่เสถียร ดังนั้นอะตอมของธาตุจะคายพลังงานเพื่อกลับสู่สภาวะพื้น ซึ่งอะตอมของธาตุแต่ละชนิดจะคายพลังงานออกมาโดยการเปล่งแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะตัว ตัวตรวจวัดก็จะสามารถวัดชนิดและปริมาณได้ สำหรับแคลเซียมและฟอสฟอรัส สามารถตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 317.933 และ 213.617 นาโนเมตร ตามลำดับ

การวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซิน สารมาตรฐานที่ใช้ Aflatoxin B1 (AFB1), Aflatoxin B2 (AFB2), Aflatoxin G1 (AFG1), Aflatoxin G2 (AFG2) แต่ละชนิดขนาด 1 มิลลิกรัม ตรา Supelco, USA ตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์นำไปสกัดด้วยเมธานอลร้อยละ 80 กรอง และเจือจางตัวอย่าง จากนั้นนำไปกรองอีกครั้งจากนั้นนำไปผ่าน อิมมูโนแอฟฟินิตีคอลัมน์ (immunoaffinity column, IAC) ซึ่งเป็นคอลัมน์สำเร็จรูปใช้ในการทำให้ อะฟลาทอกซินบริสุทธิ์ สะดวกต่อการใช้งานและใช้สารเคมีปริมาณน้อย สามารถกำจัดสิ่งรบกวนก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีแบบสมรรถนะสูง ช่วยให้ผลการตรวจสอบปริมาณอะฟลาทอกซินในระดับความเข้มข้นต่ำมากถึงระดับส่วนในพันล้านส่วนเกิดความแม่นยำสูง และเพื่อชะอะฟลาท็อกซิน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยมีสภาวะของเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์C_{18}(4.6 x 150 มิลลิเมตร, 3-5 ไมโครเมตร) ตรวจวัดในช่วงฟลูโอเรสเซ็นต์ 360 และ 440 นาโนเมตร (AOAC. 2005)

3.5.6 การใช้ผลิตภัณฑ์ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก ทดแทนสารไนไตรท์บางส่วนใน กุนเชียง

นำลูกเดือยที่ได้จากการหมักมาทดแทนสารไนไตรท์บางส่วนในผลิตภัณฑ์กุนเชียงในการทดลองนี้จะทำการแบ่งกุนเชียงเป็น 7 สูตร โดยมีกุนเชียงที่ผลิตทางการค้าใช้เป็นสูตรมาตรฐานไว้สำหรับเปรียบเทียบกับกุนเชียงสูตรต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.3 สำหรับกุนเชียง 7 สูตร มีดังนี้

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณ ไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม ดังตารางที่ 3.3

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนักไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนักไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอททีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติม ไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก บีเอชที โซเดียมเบนโซเอท และบีเอชที

ตารางที่ 3.3 แสดงองค์ประกอบของกุนเชียงสูตรมาตรฐาน

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (กรัม)
เนื้อหมู (กรัม)	1,000
มันแข็ง (กรัม)	750
ไนไตรท์ (พีพีเอ็ม)	125
ผงพะโล้ (กรัม)	20
เกลือ (กรัม)	80
น้ำตาล (กรัม)	750
ผงชูรส (กรัม)	10

กระบวนการผลิตกุนเชียงทั้ง 7 สูตร โดยนำหมูเนื้อแดงและมันหมูมาบดละเอียดด้วยเครื่องบด นำเนื้อหมูทั้งหมดมาคลุกกับส่วนประกอบต่างๆ ที่แสดงในตารางที่ 3.3 โดยแต่ละสูตรของกุนเชียงจะมีส่วนประกอบที่แตกต่างกัน คลุกเคล้าให้เข้ากันจนเป็นเนื้อเดียวกันจากนั้นกรอกเนื้อหมูที่ปรุงรสแล้วใส่ไส้แห้งด้วยเครื่องกรอก นำไปอบแห้งด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นานประมาณ 5 - 7 วัน นำไปบรรจุในถุงพลาสติกโพลิโพรไพลีน

นำกุนเชียงสูตรต่าง ๆ ที่ผลิตได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบ เช่น ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน เถ้า ปริมาณจุลินทรีย์ รวมทั้งการทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อดูการยอมรับของผู้บริโภค จากนั้น ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษากุนเชียงในถุงพลาสติกพอลิพอไพลีน ที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน เก็บตัวอย่างกุนเชียงในแต่ละสูตรทุก 7 วัน นำมาวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้

3.5.6.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหารของผลิตภัณฑ์กุนเชียง

นำกุนเชียงแต่ละสูตรมาวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และเถ้า ใช้วิธี AOAC (2000) โดยทำการวิเคราะห์ในกุนเชียงเริ่มต้น และภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน

1. วิเคราะห์ร้อยละโปรตีน โดยใช้วิธี Kjeldahl

วิธีการหาปริมาณไนโตรเจนจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอนคือ การย่อยสลายตัวอย่างโดยใช้กรดซัลฟุริกเข้มข้นภายใต้ความร้อนสูง โดยมีโลหะหนัก เช่น ทองแดง ซิลิเนียม หรือปรอท ในรูปคอปเปอร์ซัลเฟต ซิลิเนียมออกไซด์ หรือปรอทออกไซด์ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา หลังการย่อยสลายไนโตรเจนจะอยู่ในรูปแอมโมเนียมซัลเฟต จากนั้นจะเป็นขั้นตอนต่อมาจะเป็นการกลั่นของเหลวที่ได้จากการย่อยภายใต้สภาวะด่างโดยใช้ด่างแก่ จะได้แก๊สแอมโมเนียซึ่งจะถูกดักจับไว้ แล้วนำสารที่ได้มาไตเตรทในขั้นตอนสุดท้ายเพื่อหาปริมาณไนโตรเจน

$$\text{การคำนวณ ไนโตรเจน(ร้อยละ)} = \frac{14.01 \times (V_1 - V_2) \times N}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเป็นกรัม} \times 10}$$

14.01 = น้ำหนักมวลโมเลกุลของไนโตรเจน

V_1 = ปริมาตรของกรดที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V_2 = ปริมาตรของกรดที่ใช้ไตเตรทแบลงค์ (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ไตเตรท (N)

10 = ค่าคงที่ที่แปลงจากหน่วยกรัมเป็น (ร้อยละ)

2. วิเคราะห์ปริมาณไขมันทั้งหมด โดยเครื่อง Soxhlet

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันจะทำการสกัดโดยใช้สารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ สารที่ถูกสกัดได้นอกจากไขมัน แล้วยังมีสารบางชนิดที่ถูกสกัดออกมาพร้อมกับไขมันด้วย เช่นแคลโลทีนอย แว็ก อัลคาร์ลอย เป็นต้น จากการที่สารที่ถูกสกัดมีทั้งพวกที่เป็นไขมัน และไม่ใช่ไขมัน จึงเรียกสารทั้งสองว่า crude fat

$$\text{การคำนวณ ไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{(W_3 - W_1) \times 100}{W_2}$$

W_1 = น้ำหนักถ้วยสกัด

W_2 = น้ำหนักตัวอย่าง

W_3 = น้ำหนักถ้วย + น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

3. วิเคราะห์ปริมาณเถ้า

การวิเคราะห์เถ้าคือการวิเคราะห์ในส่วนของสารอนินทรีย์ (inorganic) ในอาหาร ซึ่งได้แก่แร่ธาตุต่าง ๆ เมื่อนำตัวอย่างไปเผาที่อุณหภูมิ 550-600 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ส่วนที่เป็นสารอินทรีย์จะถูกเผาไหม้หมดไป เหลืออยู่ แต่ส่วนของสารอนินทรีย์ ค่าของเถ้าที่หาได้สามารถบอกถึงคุณภาพของอาหาร ถ้าค่าของเถ้าสูงมากกว่าปกติอาจมีการปลอมปนของทราย เป็นต้น

$$\text{การคำนวณ เถ้า (ร้อยละ)} = \frac{(W_2 - W_1) \times 100}{W_3}$$

W_1 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้อง

W_2 = น้ำหนักถ้วย + น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา

W_3 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา

3.5.6.2 ปริมาณความชื้นและค่า Water activity (a_w)

การหาปริมาณความชื้นโดยนำกุนเชียงใส่ลงในครูซิเบิล (crucible) ที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นบันทึกน้ำหนักที่คงที่ จากนั้นชั่งตัวอย่าง 3 กรัม ใส่ลงในครูซิเบิล บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน นำตัวอย่างไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างออกจากตู้อบและปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักนำไปอบซ้ำจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ทำการวิเคราะห์ทุก 7 วัน คำนวณหาปริมาณความชื้นดังนี้

$$\text{ความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$$

การหาค่า Water activity ทำได้โดยหมุนปุ่มเหลืองของเครื่อง Thermoconstanter และนำตลับพลาสติกมาใส่ตัวอย่างให้ได้ปริมาตรประมาณร้อยละ 80-90 นำตลับตัวอย่างมาใส่ไว้ใน Measuring chamber และปิดฝาให้เรียบร้อย ตั้งอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นรอจนกระทั่งได้อุณหภูมิตามที่ตั้งไว้ และ ความชื้นสัมพัทธ์ ของอากาศที่วัดได้อยู่ในสภาวะที่สมดุลกับตัวอย่าง ก็จะได้ค่า a_w (water activity) ตามที่ต้องการ การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและ Water activity วิเคราะห์ทุก 7 วัน เป็นเวลา 28 วัน

3.5.6.3 การวัดค่าสี

นำกุนเชียงที่ผ่านการบดแล้วใส่ในภาชนะที่ใช้สำหรับของแข็งโดยอัดให้แน่นไม่ให้มีอากาศเข้าไป การวัดค่าสี ค่า "L" คือ ค่าความสว่าง ค่า "a" คือ ค่าสีแดง (ความแดง) และค่า "b" คือ ค่าสีเหลือง (ความเหลือง) วัดค่าสีโดยทำการสุ่มตัวอย่าง ทุก 7 วัน โดยใช้เครื่องวัดค่าสี Hunter lab ค่าที่ได้นำมาเทียบกับแผ่นแก้วที่เป็นสีมาตรฐาน ซึ่งมีค่าดังนี้ "Y" = 86.53 "X" = 82.45 และ "Z" = 91.28 ซึ่งใช้สำหรับอ้างอิง การวัดค่าสี วัดทุกๆ 7 วันเป็นเวลา 28 วัน

L*= ความสว่าง (0 = สีดำ, 100 = สีขาว)

a* = ค่าสีแดง/ค่าสีเขียว (+ = สีแดง, - = สีเขียว)

b* = ค่าสีเหลือง/ค่าสีฟ้า (+ = สีเหลือง, - = สีฟ้า)

3.5.6.4 ค่า Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) (Buege andAust, 1978)

ชั่งตัวอย่างกุนเชียง 1 กรัม เติมสารละลาย กรดไทโอบาบิทูริก (TBA) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นโดยน้ำไหล จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงแยกสารละลายที่ความเร็วรอบ 3600 xg (7,520 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 20 นาที นำสารละลายใสที่ได้ไปวัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ค่าที่ได้นำไปคำนวณหาปริมาณ TBARS (Thiobarbituric reactive substances) ในรูปของมาโลนัลดีไฮด์(malonaldehyde) โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน รายงานค่า TBARS เป็น มิลลิกรัมของ malonaldehyde ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง โดยกราฟมาตรฐานใช้สารละลาย Malondialdehyde dimethyl acetal (MDA) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน การวิเคราะห์ค่า TBARS วิเคราะห์ทุก 7วัน เป็นเวลา 28 วัน

การคำนวณ

ความเข้มข้น มิลลิกรัมของมาโลนัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง $= \frac{OD = X\ \mu g/ml\ (X\ mg\ /\ 1{,}000\ ml)}{\text{ค่าความชันที่ได้จากกราฟ}} \quad (m)$

3.5.6.5 การหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC. 2000)

โดยนำตัวอย่างมา 25 กรัม ใส่ในถุงปราศจากเชื้อและใส่น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 225 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันโดยการตีป่นโดยเครื่องตีป่นเป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการผสมให้เข้ากัน มาเจือจางให้ได้ระดับความเจือจางที่ 10^{-2} 10^{-3} 10^{-4} โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ได้แก่ plate count agar (PCA) เพื่อใช้ในการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ใช้เทคนิค pour plate บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 - 72 ชั่วโมง เป็นเวลา 28 วัน

3.5.6.6 การหาปริมาณยีสต์และรา (AOAC. 2000)

สำหรับการตรวจนับจำนวนเชื้อราและเชื้อยีสต์และรา นำตัวอย่างมา 25 กรัม ใส่ในถุงปราศจากเชื้อและใส่น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 225 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันโดยการตีป่นโดยเครื่องตีป่นเป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการผสมให้เข้ากัน มาเจือจางให้ได้ระดับความเจือจางที่ 10^{-2} 10^{-3} 10^{-4} ใช้อาหาร Potato dextrose agar (PDA) ปรับพีเอชที่ 4.5 ใช้เทคนิค Spread plate เช่นเดียวกัน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 - 72 ชั่วโมง ทำการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์และแสดงเป็นค่า log CFU ต่อกรัมของตัวอย่าง ตรวจนับยีสต์และรา ทำทุก 7 วัน เป็นเวลา 28 วัน

3.5.6.7 การทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

นำกุนเชียงมาทอดจนกระทั่งอุณหภูมิภายในของกุนเชียงได้ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง หั่นเป็นชิ้นหนาประมาณ 0.3 เซนติเมตร จากนั้นให้ผู้ทดสอบชิม ซึ่งเป็นอาสาสมัครจำนวน 20 คน ให้คะแนนความชอบแบบ 9 - point hedonic scale โดย 1 = ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 = ชอบมากที่สุด ประเมินคุณภาพด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ความเหนียว และการยอมรับโดยรวม

3.5.6.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การศึกษาองค์ประกอบต่างๆ ของกุนเชียงในแต่ละสูตร มีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely randomized design (CRD) มีจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical package for the social science (SPSS) version 18.0 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็งเป็นเวลา 25 วัน

จากการออกแบบการทดลองแบบ Central composite design (CCD) แสดงผลการทดลองที่ได้โดยวิธี Respond surface methodology (RSM) ข้อมูลทั้งหมดนำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) โดย R^2 มีค่าเท่ากับ 0.94 แสดงดังตารางที่ 4.1 สำหรับค่าสัมประสิทธิ์หรือค่าคงที่ในสมการ regression แสดงดัง ตารางที่ 4.2 และปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารสี ได้แก่ พีเอช (X_2) และอุณหภูมิ (X_3) และผลจากปัจจัยร่วมกัน (interaction effect) ของความชื้นกับค่าพีเอช (X_1, X_2) แสดงดังรูปที่ 4.3 และ ตารางที่ 4.2 โดยค่าที่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) ดังนั้นจะเห็นว่าพีเอชและอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญในการผลิตสารสีจากเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือย และอีกปัจจัยที่มีความสำคัญ คือ ผลจากปัจจัยร่วมกันของความชื้นกับพีเอช โดยความสัมพันธ์ดังกล่าวมีความสัมพันธ์กันและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) และค่าสัมประสิทธ์ของค่า X_1^2, X_2^2, X_3^2 นั้นมีผลต่อการผลิตสารสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) จากการทดลองสามารถหาสมการการผลิตสารสีได้ตามสมการที่ 1 โดยพบว่าปริมาณสารสีที่ผลิตได้คือ 108 OD ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 4.1 ตารางANOVAที่แสดงถึงปัจจัยทางด้านความชื้น พีเอช และอุณหภูมิ ที่มีผลต่อการผลิตสารสีของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือย

Source	Sum of squares	Degree of freedom	Mean squares	F - value
Regress	86199.80	9	9577.76	81.79
Residual	5854.49	50	117.10	
Lack of fit	778.51	1	778.51	132.22
Pure error	264.96	45	5.88	
R^2	0.94			

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของการผลิตสารสีจากเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090

เงื่อนไข	ค่าสัมประสิทธิ์	ค่า *p*-value
ค่าคงที่	107.691	0.000
ความชื้น (X_1)	1.905	0.265
พีเอช (X_2)	8.318	0.000
อุณหภูมิ (X_3)	-3.641	0.036
ความชื้น x พีเอช (X_1X_2)	-5.117	0.025
ความชื้น x อุณหภูมิ (X_1X_3)	1.695	0.450
พีเอช x อุณหภูมิ (X_2X_3)	- 2.804	0.210
ความชื้น x ความชื้น (X^2_1)	-27.499	0.000
พีเอช x พีเอช (X^2_2)	-26.760	0.000
อุณหภูมิ x อุณหภูมิ (X^2_3)	-28.192	0.000

$$Y = b_0+b_1X_1+b_2X_2+b_3X_3+b_{1,2}X_1X_2+b_{1,3}X_1X_3+b_{2,3}X_2X_3+b_{1,1}X^2_1+b_{2,2}X^2_2+b_{3,3}X^2_3+\epsilon \ldots (4.1)$$

Y = ปัจจัยตามที่ต้องการศึกษา

b_0 = สัมประสิทธิ์ค่าคงที่ของสมการ

b_1, b_2, b_3 = สัมประสิทธิ์ของปัจจัยที่ 1 2 และ3

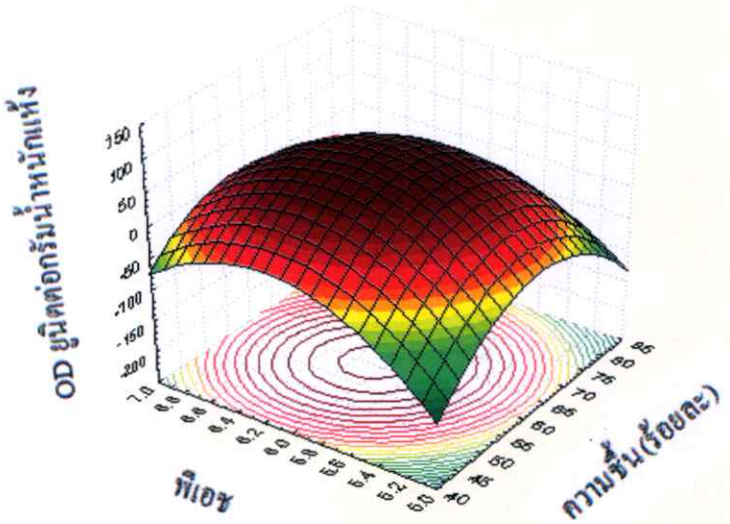
$b_{1,2}$ = สัมประสิทธิ์ของปัจจัยที่ 1 และ2

$b_{1,3}$ = สัมประสิทธ์ของปัจจัยที่ 1 และ3

b_{11}, b_{22}, b_{33} = สัมประสิทธิ์ของนิพจน์กำลังสอง ของปัจจัยที่ 1 2 และ3

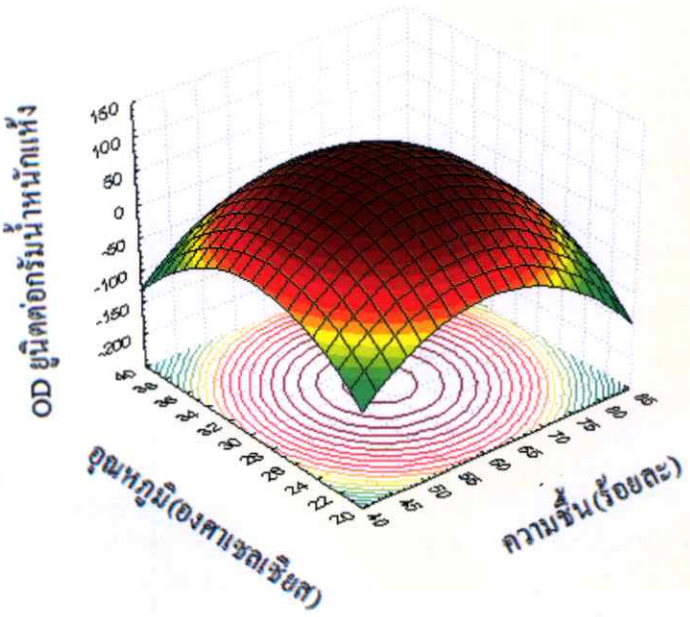
ϵ = ความคลาดเคลื่อนของสมการ

OD unit / g- dry weight = -4726.3884+32.9103*x+1253.7323*y-0.2199*x*x-1.0205*x*y -97.9877*y*y



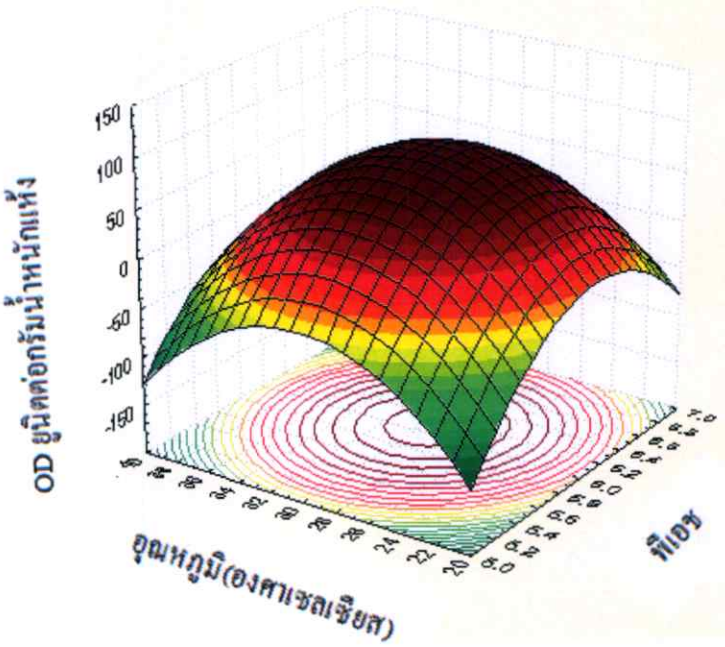
รูปที่ 4.1 แสดงกราฟ 3 มิติของผลจากปัจจัยร่วมกันของความชื้นและพีเอชต่อการผลิตสารสี

OD unit / g- dry weight = -1592.232+25.9635*x+59.8355*y-0.2215*x*x+0.0338*x*y-1.0432 *y*y



รูปที่ 4.2 แสดงกราฟ 3 มิติของผลจากปัจจัยร่วมกันของความชื้นและอุณหภูมิต่อการผลิตสารสี

OD unit / g- dry weight = -4588.786+1208.2607*x+67.3565*y-96.4884*x*x-1.125*x*y -1.0223*y*y



รูปที่ 4.3 แสดงกราฟ 3 มิติของผลจากปัจจัยร่วมกันของพีเอชและอุณหภูมิต่อการผลิตสารสี

สำหรับการหมักในสภาวะอาหารแข็งนั้นความชื้นเป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์และการผลิตสารเมตาบอไลท์ (Pandey. 2003) ซึ่งปริมาณสารสีสูงสุดคือ 105 OD ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อปรับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 58 - 63 แต่เมื่อใช้ความชื้นลดลงและสูงขึ้นมีผลทำให้ ปริมาณสารสีลดลง ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ John และ Stuart (1991) ซึ่งรายงานว่าถ้าความชื้นเริ่มต้นของวัตถุดิบน้อยกว่าร้อยละ 40 จะทำให้การผลิตสารสีลดลง แต่ถ้าใช้ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 - 56 จะทำให้ปริมาณสารสีสูงสุด Babitha และคณะ (2007) พบว่าถ้าปรับความชื้นเริ่มต้นในวัตถุดิบเป็นร้อยละ 50 เชื้อ *M. purpureus* จะผลิตสารสีได้สูงสุด แต่ถ้าใช้ความชื้นน้อยกว่าหรือมากกว่านี้ จะทำให้ปริมาณสารสีที่ได้ลดลง การใช้ความชื้นเริ่มต้นที่สูงในการหมักในสภาวะอาหารแข็งจะมีผลทำให้การแลกเปลี่ยนความร้อน การถ่ายเทออกซิเจนไม่ดีและความสามารถในการนำสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อไปใช้ประโยชน์ได้น้อยลง (Carrizales และ Rodriguez. 1981) มีรายงานว่าเชื้อ *Monascus* แต่ละสายพันธุ์จะมีปริมาณความชื้นที่เหมาะสมในการผลิตสารสีที่แตกต่างกันออกไป

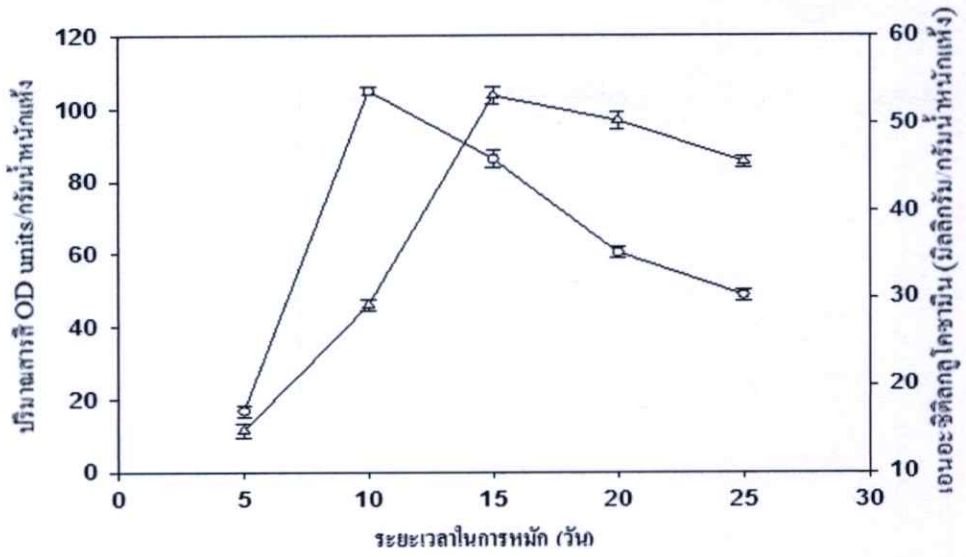
อุณหภูมิเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญและกิจกรรมของจุลินทรีย์ จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิที่ เหมาะสมต่อการผลิตสารสีอยู่ในช่วง 28-31 องศาเซลเซียส ซึ่งเชื้อ *M. purpureus* ที่ใช้ใน

การทดลองนี้เป็น Mesophilic fungus ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Domshc และคณะ (1980) ซึ่งรายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมของเชื้อนี้อยู่ในช่วง 30-37 องศาเซลเซียส ซึ่งจะแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ของ *Monascus* sp. สำหรับพีเอช จากการทดลองพบว่าพีเอชที่ทำให้เชื้อผลิตปริมาณสารสีได้สูงสุดคืออยู่ในช่วง พีเอช 5.95-6.25 ถ้าพีเอชต่ำหรือสูงกว่านี้จะทำให้ปริมาณสารสีลดลง จากการทดลองของ Yongsmith และคณะ (2000) พบว่าถ้าพีเอชต่ำ เชื้อจะผลิตสารสีเหลืองมากกว่าการผลิตสารสีแดง และเมื่อพีเอชสูงขึ้น การผลิตสารสีแดงจะมีมากกว่าสารสีเหลือง

จากการทดลอง พบว่า ปัจจัยที่มีความสำคัญและมีผลต่อการผลิตสารสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือ พีเอช อุณหภูมิ สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสีคือ ความชื้นร้อยละ 58-63 พีเอช 5.95-6.25 และ อุณหภูมิ 28-39 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณสารสี 108.05 OD ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในวันที่ 10 ของการหมัก (ค่าจากการทำนาย)

4.2. ศึกษาการเจริญและการผลิตสารสีของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือย ใน สภาวะอาหารแข็ง

สภาวะที่ใช้ในการศึกษา คือ สภาวะที่ได้จากการทำนายที่ผลิตสารสีได้สูงสุด ซึ่งได้จากการศึกษาในหัวข้อ 4.1 โดยนำสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทำนายในการทดลองหัวข้อที่ 4.1 มาศึกษาการเจริญและการผลิตสารสีของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยพบว่าเชื้อจะมีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วง 15 วันแรก โดยมีการเจริญสูงสุดในวันที่ 15 วัดโดยวัดปริมาณ เอนอะซิ-ติลกลูโคซามีน ได้ 53.2 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นการเจริญของเชื้อค่อนข้างคงที่และลดลง สำหรับปริมาณสารสีที่เชื้อผลิตได้จะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในช่วง 10 วันแรกของการหมัก โดยพบว่าในวันที่ 10 ของการหมักจะมีปริมาณสารสีสูงสุด 105 OD ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในรูปที่ 4.4 หลังจากนั้นปริมาณสารสีจะลดลง อาจเนื่องมาจาก เมื่อเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 มีการเจริญ เชื้อจะมีการหายใจทำให้เกิดความชื้นเพิ่มสูงขึ้น ขณะเดียวกันเชื้อจะมีการสร้างเอนไซม์อะไมเลส เพื่อทำให้เกิดการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่สูงขึ้นนั้นจะไปมีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์สารสี (Lotong และ Suwanarit. 1990) ทำให้ปริมาณสารสีที่ได้ลดลง สำหรับปริมาณสารสีที่ได้จากการทำนายมีค่า 108.05 OD ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง แสดงดังตารางที่ 4.3 ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่าที่ได้จากการทดลองเล็กน้อย



ปริมาณสารสี —○— ปริมาณเอนอะซิติลกลูโคซามีน —△—

รูปที่ 4.4 ปริมาณสารสีและปริมาณเอนอะซิติลกลูโคซามีนที่ได้จากการหมักของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยเป็นเวลา 25 วัน

ตารางที่ 4.3 ผลของการผลิตสารสีโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทำนาย

ความชื้น (ร้อยละ)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณสารสี (OD ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)	
			ค่าที่ได้จากการทำนาย	ค่าที่ได้จากการทดลอง
61.32	6.05	29.50	108.05	105.00

จากผลการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสีของเชื้อรา *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็ง เป็นเวลา 25 วัน ออกแบบการทดลองโดยใช้ Central composite design (CCD) โดยมีปัจจัยที่ศึกษา 3 ปัจจัยได้แก่ ความชื้น (X_1 = ร้อยละ 50 60 และ 70) พีเอช (X_2 = 5.5 6.0 และ 6.5) และอุณหภูมิ (X_3 = 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส) จากการทดลองพบว่าปัจจัยที่มีความสำคัญและมีผลต่อการผลิตสารสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ พีเอช และ อุณหภูมิ สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสีคือ ความชื้นร้อยละ 58-63 พีเอช 5.95-6.25 และ อุณหภูมิ 28-31 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณสารสี 105 OD ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในวันที่ 10 ของการหมัก

รูปที่ 4.5 ลักษณะของลูกเดือยที่ได้จากการหมักของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 ในสภาวะอาหารแข็งเป็นเวลา 10 วัน

รูปที่ 4.6 ลักษณะของผงลูกเดือยที่ได้จากการหมักผ่านการฆ่าเชื้อ และ นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ลูกเดือยที่ได้จากการหมักหลังจากนำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาบดให้เป็นผงโดยใช้โถปั่นไฟฟ้า ร่อนผ่านตะแกรงร่อนเบอร์ 48 จะได้ผงสีแดงที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.29 มิลลิเมตร แสดงดังรูปที่ 4.6 จากนั้นจึงนำผงสีแดงที่ได้ไปวิเคราะห์องค์ประกอบของสารอาหาร เช่นโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เป็นต้น

4.3 วิเคราะห์องค์ประกอบสารอาหารในลูกเดือยที่ได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสม

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหารของลูกเดือยสีแดงที่ผ่านการหมักโดยเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 หมักในสภาวะอาหารแข็ง ในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จาการศึกษาในขั้นต้น เป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบกับลูกเดือยที่ไม่ผ่านการหมัก พบว่าลูกเดือยที่ผ่านการหมักมีปริมาณ โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใย คือ ร้อยละ 23.9 11.84 3.89 และ 10.78 ตามลำดับ ขณะที่ลูกเดือยที่ไม่ผ่านการหมักมีร้อยละ 11.56 6.30 1.71 และ2.63 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าลูกเดือยที่ผ่านการหมักมีปริมาณสารอาหารเหล่านี้เพิ่มสูงขึ้นกว่าลูกเดือยที่ไม่ผ่านการหมักดังแสดงในตารางที่ 4.4ขณะที่ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในลูกเดือยที่ผ่านการหมักมีปริมาณน้อยกว่าลูกเดือยที่ไม่ผ่านการหมัก สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามิน บี 1 บี 2 แคลเซียม ฟอสฟอรัส พบว่า ลูกเดือยที่ผ่านการหมักจะมีปริมาณวิตามินบี 1 บี 2 คือ 1.53 และ 0.57 มิลลิกรัมต่อ100 กรัมตัวอย่าง และปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัส คือ 180.74 และ 7,232 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตัวอย่าง ซึ่งสูงกว่าที่พบในลูกเดือยที่ไม่ผ่านการหมัก และ จากการวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินโดยวิธี HPLC (AOAC 991.31. 2005) ตามมาตรฐานต่ำสุดที่อนุญาตให้พบได้ในผลิตภัณฑ์คือ 0.39 นาโนกรัมต่อกรัมตัวอย่าง พบว่าลูกเดือยที่ผ่านการหมักโดยเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 ไม่พบอะฟลาทอกซินชนิด บี1 บี2 จี1 และ จี2 ดังแสดงในตารางที่ 4.5

จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าลูกเดือยที่ได้จากการหมักของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 ในสภาวะที่เหมาะสม คือ ความชื้นร้อยละ 58-63 พีเอช 5.95-6.25 และอุณหภูมิ 28 - 31 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน ในสภาวะอาหารแข็ง มีองค์ประกอบของสารอาหารที่มีความสำคัญ และเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพเพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันไม่พบอะฟลาทอกซินที่เป็นพิษต่อร่างกาย

ตารางที่ 4.4 แสดงการเปรียบเทียบองค์ประกอบสารอาหารของลูกเดือยที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 10 วัน ในสภาวะที่เหมาะสมกับลูกเดือยที่ไม่ผ่านการหมัก

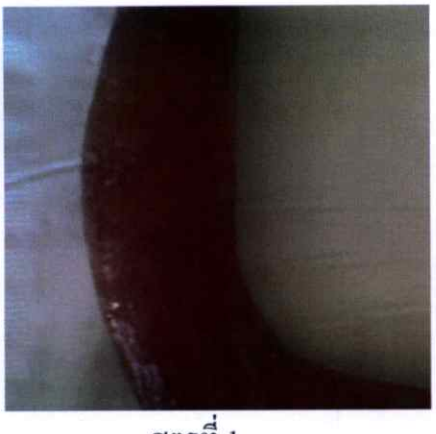
องค์ประกอบ	ลูกเดือยที่ผ่านการหมัก	ลูกเดือยที่ไม่ผ่านการหมัก	วิธีการทดสอบ
ความชื้น (ร้อยละ)	7.20	11.00	AOAC (2008)
โปรตีน (ร้อยละ)	23.99	11.56	AOAC (2005)
ไขมัน (ร้อยละ)	11.84	6.30	AOAC (2005)
เถ้า (ร้อยละ)	3.89	1.71	AOAC (2005)
เส้นใย (ร้อยละ)	10.78	2.63	AOAC (2005)
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด(ร้อยละ)	53.08	69.43	AOAC (2005) โดยการคำนวณ

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณวิตามิน บี 1 บี 2 แคลเซียม ฟอสฟอรัส และอะฟลาทอกซิน ในลูกเดือยที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบกับลูกเดือยที่ไม่ผ่านการหมัก

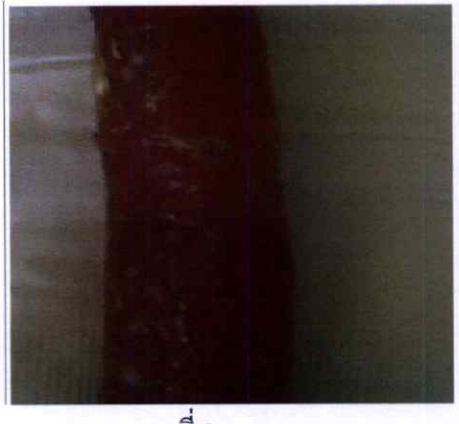
องค์ประกอบ	ลูกเดือยที่ผ่านการหมัก	ลูกเดือยที่ไม่ผ่านการหมัก	วิธีการทดสอบ
วิตามิน บี 1 (mg/100g)	1.53	0.50	Journal of Cereal Science (2005)
วิตามิน บี 2 (mg/100g)	0.57	0.02	Analytica Chimica Acta (2005)
แคลเซียม (mg/kg)	180.74	76.45	AOAC (2005)
ฟอสฟอรัส (mg/kg)	7,232	3,442	AOAC (2005)
อะฟลาทอกซิน บี 1 บี 2 จี 1 และจี 2	ไม่พบ	ไม่พบ	AOAC (2005)

4.4 การใช้ผลิตภัณฑ์ลูกเดือยที่ได้จากการหมักทดแทนสารไนไตรท์บางส่วนในกุนเชียง

ลูกเดือยที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 นำมาทดแทนไนไตรท์บางส่วนในผลิตภัณฑ์กุนเชียง ซึ่งทำการศึกษากุนเชียงทั้งหมด 7 สูตร กุนเชียงที่ได้จะทำการบรรจุในถุงโพลีโพไพลีน ปิดให้แน่น เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน ทำการสุ่มตัวอย่างทุก 7 วัน เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส



สูตรที่ 1



สูตรที่ 2

สูตรที่ 3

สูตรที่ 4

สูตรที่ 5

สูตรที่ 6

สูตรที่ 7

รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร ที่มีการนำลูกเดือยที่ได้จากการหมักมาทดแทนสารไนไตรท์บางส่วน

4.4.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหารของกุนเชียงที่ผลิตได้

4.4.1.1 ปริมาณโปรตีน

จากการนำลูกเดือยที่ได้จากการหมักของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 มาทดแทนไนไตรท์บางส่วนในผลิตภัณฑ์กุนเชียง ทำการทดลองทั้งหมด 7 สูตร พบว่าปริมาณโปรตีนเริ่มต้นในกุนเชียงทั้ง 7 สูตรมีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 32.35-35.28 เมื่อเก็บรักษากุนเชียงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน จากนั้นนำกุนเชียงแต่ละสูตรมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนอีกครั้ง พบว่ากุนเชียงทุกสูตรมีปริมาณลดลง โดยเฉพาะกุนเชียงสูตรที่ 7 ซึ่งไม่มีสารไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และบีเอชที มีปริมาณโปรตีนลดลงร้อยละ 5.10 กุนเชียงสูตรมาตรฐาน (สูตรที่ 1) และ สูตรที่ 3 ซึ่งผสมโซเดียมเบนโซเอทอย่างเดียว มีปริมาณโปรตีนลดลงต่ำมาก คือร้อยละ 2.08 และ 2.19 ตามลำดับ ขณะที่กุนเชียงสูตรที่ 2 5 และ6 ซึ่งมีลูกเดือยที่ได้จากการหมักเป็นส่วนผสมมีปริมาณ โปรตีนลดลงร้อยละ 3.07 3.51 และ 3.59 ตามลำดับ เมื่อนำปริมาณโปรตีนที่ลดลงของกุนเชียงแต่ละสูตรมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า กุนเชียงสูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) มีปริมาณโปรตีนลดลงน้อยกว่ากุนเชียงสูตรอื่นๆ คือ ร้อยละ 2.08โดยกุนเชียงสูตรที่ใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมักร่วมกับสารอื่น คือ สูตรที่ 5 และ 6 มีปริมาณโปรตีนลดลงใกล้เคียงกันโดยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยลดลงอยู่ในช่วงร้อยละ 3.51-3.59 กุนเชียงสูตรที่ 7 มีปริมาณโปรตีนลดลงมากที่สุดคือ ร้อยละ 5.10 และ มีความแตกกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกุนเชียงสูตรมาตรฐานดังแสดงในตารางที่ 4.6 และ รูปที่ 4.8

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณโปรตีนของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน

สูตรกุนเชียง	ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)		ปริมาณโปรตีนที่ลดลง (ร้อยละ)
	วันที่ 0	วันที่ 28	
สูตรที่ 1	$32.45^{b} \pm 0.06$	$30.35^{c} \pm 0.09$	$2.08^{d} \pm 0.03$
สูตรที่ 2	$35.23^{a} \pm 0.09$	$32.16^{c} \pm 0.07$	$3.07^{c} \pm 0.02$
สูตรที่ 3	$32.35^{b} \pm 0.07$	$30.27^{c} \pm 0.23$	$2.19^{d} \pm 0.15$
สูตรที่ 4	$32.54^{b} \pm 0.09$	$29.18^{d} \pm 0.10$	$3.31^{b} \pm 0.08$
สูตรที่ 5	$35.28^{a} \pm 0.17$	$31.77^{b} \pm 0.16$	$3.51^{b} \pm 0.01$
สูตรที่ 6	$35.27^{a} \pm 0.12$	$31.58^{b} \pm 0.23$	$3.59^{b} \pm 0.3$
สูตรที่ 7	$32.84^{b} \pm 0.09$	$27.29^{e} \pm 0.07$	$5.10^{a} \pm 0.01$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

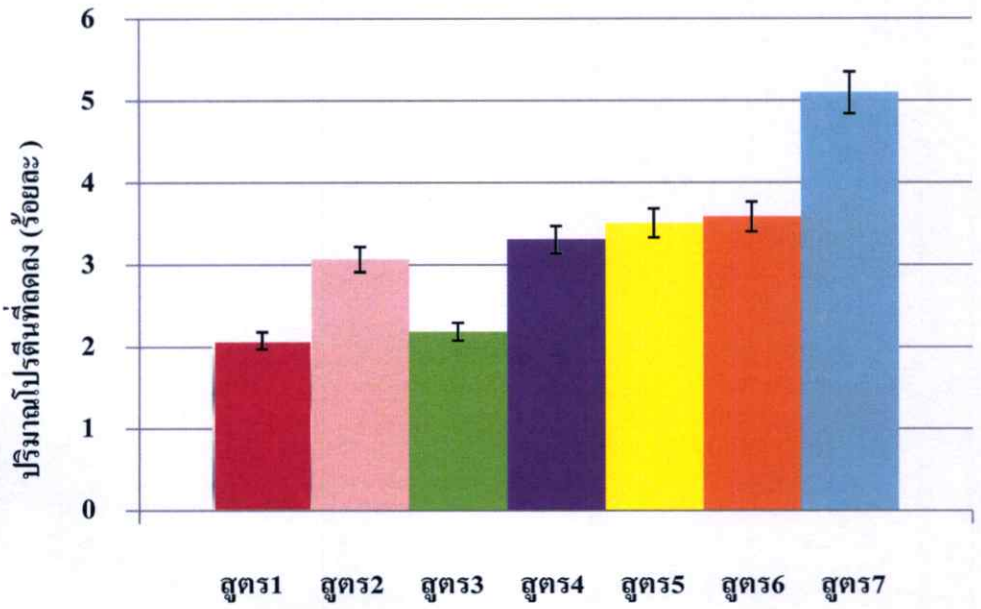
สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และบีเอชที



รูปที่ 4.8 แสดงปริมาณโปรตีนที่ลดลงของกุนเชียงทั้ง 7 สูตรที่มีการทดแทนไนไตรท์บางส่วนด้วยลูกเดือยที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 โดยทำการศึกษาเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4.4.1.2 ปริมาณไขมัน

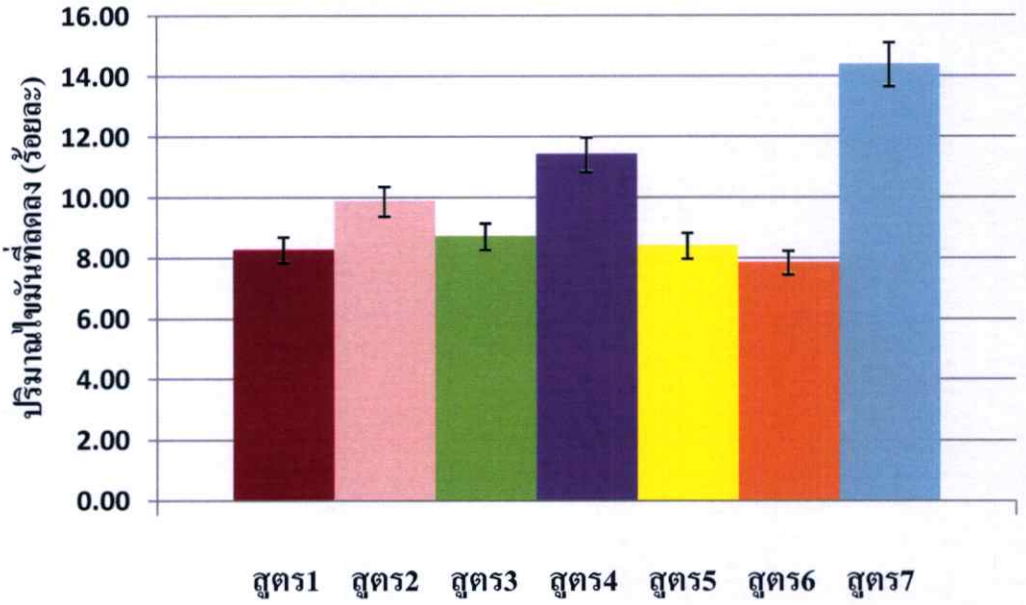
จากการนำลูกเดือยสีแดงที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 มาใช้ทดแทนสารไนไตรท์บางส่วนในผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้งหมด 7 สูตร จากการทดลองพบว่าปริมาณไขมันเริ่มต้นในกุนเชียงทั้ง 7 สูตร มีปริมาณใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 37.57-38.67 เมื่อเก็บรักษากุนเชียงทั้ง 7 สูตรในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน และในวันที่ 28 นำกุนเชียงทั้ง 7 สูตรมาวิเคราะห์ปริมาณไขมันอีกครั้งพบว่า กุนเชียงทั้ง 7 สูตร มีปริมาณไขมันลดลงจากวันแรกของการผลิต โดยเฉพาะกุนเชียงสูตรที่ 7 ซึ่งไม่มีการเติม ไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และบีเอชที มีประมาณไขมันร้อยละ 24.12 เมื่อคิดเป็นปริมาณไขมันที่ลดลงร้อยละ 14.40 ซึ่งสูงกว่ากุนเชียงในสูตรอื่นๆ กุนเชียงสูตรที่ 1 2 3 4 5 และ6 มีปริมาณไขมันลดลงทั้งหมด 8.29 9.89 8.73 11.43 8.42 และ7.86 ตามลำดับ เมื่อนำปริมาณไขมันที่ลดลงของกุนเชียงทั้ง 7 สูตรมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า กุนเชียงสูตรที่ 2 5 และ6 ซึ่งมีการใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมักมีการลดลงของไขมันใกล้เคียงกับกุนเชียงสูตรมาตรฐาน (สูตรที่ 1) และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับกุนเชียงสูตรที่ 1 แสดงดังตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.9

ตารางที่ 4.7 แสดงปริมาณไขมันของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

สูตรกุนเชียง	ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)		ปริมาณไขมันที่ลดลง (ร้อยละ)
	วันที่ 0	วันที่ 28	
สูตรที่1	$38.39^{a} \pm 0.09$	$30.20^{a} \pm 0.09$	$8.29^{cd} \pm 0.90$
สูตรที่ 2	$37.56^{b} \pm 0.14$	$27.68^{bc} \pm 1.11$	$9.89^{bc} \pm 1.23$
สูตรที่ 3	$38.52^{a} \pm 0.10$	$29.79^{a} \pm 0.94$	$8.73^{cd} \pm 0.85$
สูตรที่ 4	$38.56^{a} \pm 0.12$	$26.98^{c} \pm 0.76$	$11.43^{b} \pm 0.72$
สูตรที่ 5	$37.61^{b} \pm 0.09$	$29.11^{ab} \pm 0.16$	$8.42^{cd} \pm 0.09$
สูตรที่ 6	$37.60^{b} \pm 0.01$	$29.70^{a} \pm 0.57$	$7.86^{d} \pm 0.41$
สูตรที่ 7	$38.67^{a} \pm 0.15$	$24.12^{d} \pm 0.45$	$14.40^{a} \pm 0.55$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม
(สูตรมาตรฐาน)
สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์
สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์
สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์
สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม
สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก
สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที



รูปที่ 4 .9 แสดงปริมาณไขมันที่ลดลงเมื่อเก็บรักษากุนเชียงทั้ง 7 สูตร ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

4.4.1.3 ปริมาณเถ้า

จากการนำลูกเดือยที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 มาทดแทนไนไตรท์บางส่วนในผลิตภัณฑ์กุนเชียง และศึกษากุนเชียงทั้ง 7 สูตร พบว่า กุนเชียงทั้ง 7 สูตร มีปริมาณเถ้าใกล้เคียงกันโดยมีค่าร้อยละ 4.44-5.18 เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่า กุนเชียงทุกสูตรมีปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะกุนเชียงสูตรที่ 7 ซึ่งไม่มีการเติมไนไตรท์

ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที มีปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้นสูงสุด ร้อยละ 0.38 ขณะที่ กุนเชียงสูตรที่ 2 5 และ 6 ซึ่งมีการใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมักเป็นส่วนประกอบในการทำกุนเชียง มีปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย คือ ร้อยละ 0.19 0.15 และ 0.10 ตามลำดับ สำหรับกุนเชียงสูตรมาตรฐานซึ่งเติมไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม มีปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.22 และ เมื่อนำปริมาณเถ้าที่เพิ่มขึ้นของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร มาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า กุนเชียงทั้ง 7 สูตร มีปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้น โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.8 และ รูปที่ 4.10

ตารางที่ 4. 8 แสดงปริมาณเถ้าของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

สูตรกุนเชียง	ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)		ปริมาณเถ้าที่เพิ่มขึ้น (ร้อยละ)
	วันที่ 0	วันที่ 28	
สูตรที่1	$4.63^{b} \pm 0.09$	$4.85^{b} \pm 0.07$	$0.22^{a} \pm 0.16$
สูตรที่ 2	$5.18^{a} \pm 0.02$	$5.28^{a} \pm 0.07$	$0.19^{a} \pm 0.02$
สูตรที่ 3	$4.67^{b} \pm 0.09$	$4.89^{b} \pm 0.02$	$0.22^{a} \pm 0.04$
สูตรที่ 4	$4.61^{b} \pm 0.04$	4.91b ± 0.02	$0.27^{a} \pm 0.04$
สูตรที่ 5	$5.17^{a} \pm 0.04$	$5.33^{a} \pm 0.05$	$0.15^{a} \pm 0.07$
สูตรที่ 6	$5.13^{a} \pm 0.06$	$5.23^{a} \pm 0.04$	$0.10^{a} \pm 0.08$
สูตรที่ 7	$4.44^{c} \pm 0.08$	$4.81^{b} \pm 0.03$	$0.38^{a} \pm 0.02$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

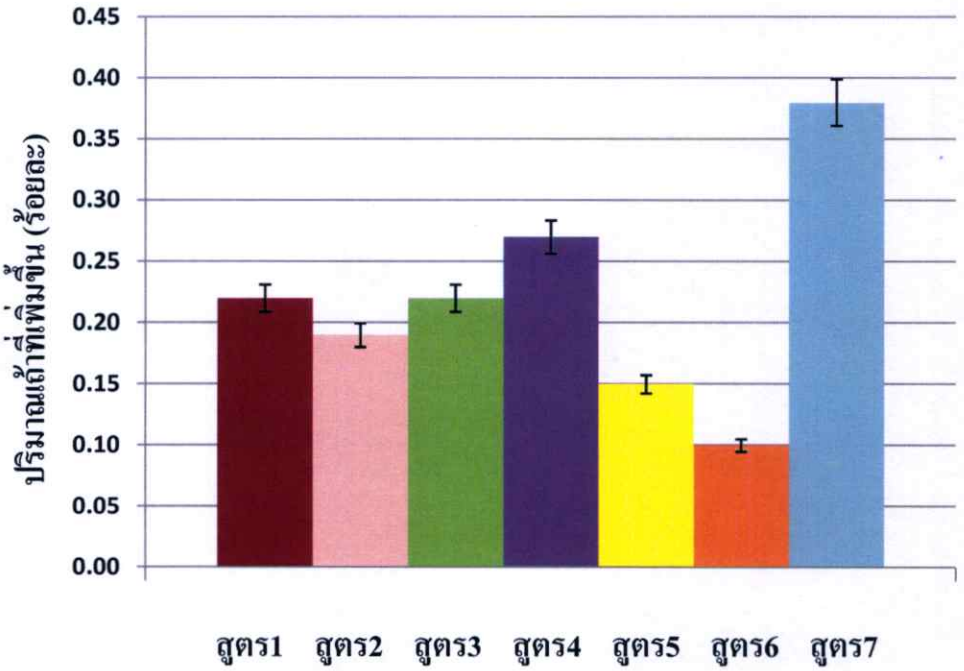
สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที



รูปที่ 4.10 แสดงปริมาณเถ้าที่เพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษากุนเชียงทั้ง 7 สูตรที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

4.4.2 ปริมาณความชื้น และค่า Water activity (a_w)

จากการนำลูกเดือยที่หมักโดยเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 มาทดแทนไนไตรท์บางส่วนในผลิตภัณฑ์กุนเชียงโดยได้ทำการศึกษาผลิตภัณฑ์ทั้งหมด 7 สูตร พบว่ากุนเชียงทั้ง 7 สูตรมีปริมาณความชื้นใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 13.22-16.05 โดยกุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักเป็นส่วนประกอบดังสูตรที่ 2 5 และ6 จะมีความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 14.03 13.22 และ13.60 ตามลำดับ ซึ่งมีความชื้นน้อยกว่ากุนเชียงสูตรอื่นๆ ที่ไม่มีการเติมลูกเดือยที่ได้จากการหมักเป็นส่วนประกอบ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่ากุนเชียงทั้ง 7 สูตรมีความชื้นลดลง โดยเฉพาะกุนเชียงในสูตรที่ 2 5 และ6 มีความชื้นเหลือเพียงร้อยละ 12.52 12.13 และ 12.90 ขณะที่สูตรมาตรฐาน (สูตรที่ 1) มีความชื้นเหลือร้อยละ 14.24 ในวันที่ 28 ของการเก็บรักษา เมื่อนำปริมาณความชื้นที่ลดลงของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร มาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า กุนเชียงสูตรที่ 2 5 และ 6 ซึ่งเป็นกุนเชียงที่มีการใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมักเพียงอย่างเดียว และสูตรที่ใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก

ร่วมกับสารอื่น มีปริมาณความชื้นลดลงร้อยละ 1.05 1.47 และ0.83 ตามลำดับ โดยปริมาณความชื้นที่ลดลงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับกุนเชียงสูตรมาตรฐาน (สูตรที่1) ซึ่งมีปริมาณความชื้นลดลงร้อยละ 1.03 แสดงดังตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.11

ตารางที่ 4.9 แสดงความชื้นของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน

สูตรกุนเชียง	ค่าความชื้น (ร้อยละ) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส					ความชื้นที่ลดลง (ร้อยละ)
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28	
สูตรที่1	$15.33^{b} \pm 0.06$	$14.93^{b} \pm 0.17$	$14.62^{b} \pm 0.12$	$14.38^{b} \pm 0.13$	$14.24^{b} \pm 0.07$	$1.03^{abc} \pm 0.15$
สูตรที่ 2	$14.03^{c} \pm 0.08$	$14.07^{d} \pm 0.07$	$13.92^{c} \pm 0.10$	$12.99^{d} \pm 0.02$	$12.52^{e} \pm 0.09$	$1.05^{abc} \pm 0.52$
สูตรที่ 3	$15.81^{a} \pm 0.08$	$15.89^{a} \pm 0.03$	$15.53^{a} \pm 0.16$	$15.24^{a} \pm 0.07$	$15.20^{a} \pm 0.10$	$0.61^{c} \pm 0.18$
สูตรที่ 4	$14.83^{b} \pm 0.24$	$14.47^{c} \pm 0.22$	$14.19^{c} \pm 0.12$	$13.87^{c} \pm 0.15$	$13.52^{c} \pm 0.08$	$1.50^{a} \pm 0.33$
สูตรที่ 5	$13.22^{d} \pm 0.29$	$13.77^{de} \pm 0.14$	$13.10^{d} \pm 0.10$	$12.92^{d} \pm 0.06$	$12.13^{f} \pm 0.14$	$1.47^{ab} \pm 0.24$
สูตรที่ 6	$13.60^{c} \pm 0.28$	$13.55^{e} \pm 0.06$	$13.29^{d} \pm 0.06$	$13.03^{d} \pm 0.10$	$12.90^{d} \pm 0.04$	$0.83^{bc} \pm 0.24$
สูตรที่ 7	$16.05^{a} \pm 0.12$	$15.91^{a} \pm 0.12$	$15.68^{a} \pm 0.20$	$15.41^{a} \pm 0.09$	$15.12^{a} \pm 0.11$	$0.89^{bc} \pm 0.07$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

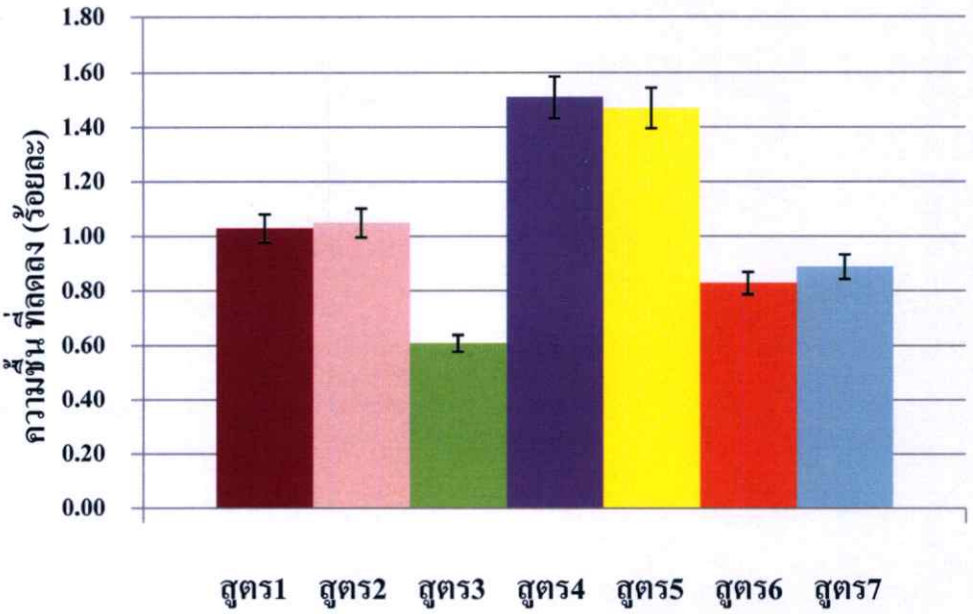
สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที



รูปที่ 4.11 แสดงปริมาณความชื้นที่ลดลงเมื่อเก็บรักษากุนเชียงทั้ง 7 สูตรที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

สำหรับการเปลี่ยนแปลงของค่า a_w ของผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้ง 7 สูตร เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่า กุนเชียงทั้ง 7 สูตรมีค่า Water activity ลดลงเช่นเดียวกับความชื้นโดยกุนเชียงทั้ง 7 สูตรมีค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.65 - 0.69 เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่ากุนเชียงทั้ง 7 สูตรมีค่า a_w ลดลง โดย กุนเชียงสูตรที่ 7 มีค่า a_w ลดลงมากที่สุด ขณะที่กุนเชียงสูตรที่ 2 5 แล 6 ซึ่งมีการใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมักทดแทนไนไตรท์บางส่วน มีค่า a_w ที่ลดลง 0.09 0.07 และ 0.05 เมื่อนำค่า a_w ที่ลดลงของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร มาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า กุนเชียงสูตรที่ 7 มีค่า a_w ลดลงสูงสุด และ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกุนเชียงสูตรที่ 5 และ 6 รวมทั้งสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรมาตรฐานแสดงดังตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.12

ตารางที่ 4.10 แสดงค่า Water activity (a_w) ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

สูตรกุนเชียง	Water activity (a_w)					ค่า water activity ที่ลดลง(a_w)
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28	
สูตรที่1	$0.68^{a} \pm 0.02$	$0.66^{ab} \pm 0.00$	$0.65^{a} \pm 0.01$	$0.63^{a} \pm 0.01$	$0.60^{a} \pm 0.00$	$0.08^{c} \pm 0.13$
สูตรที่ 2	$0.67^{ab} \pm 0.00$	$0.68^{a} \pm 0.00$	$0.63^{ab} \pm 0.02$	$0.60^{bc} \pm 0.00$	$0.58^{a} \pm 0.00$	$0.09^{bc} \pm 0.00$
สูตรที่ 3	$0.680^{a} \pm 0.00$	$0.65^{ab} \pm 0.01$	$0.64^{a} \pm 0.00$	$0.62^{b} \pm 0.01$	$0.59^{a} \pm 0.00$	$0.09^{bc} \pm 0.00$
สูตรที่ 4	$0.69^{a} \pm 0.01$	$0.66^{a} \pm 0.01$	$0.62^{bc} \pm 0.02$	$0.60^{c} \pm 0.00$	$0.55^{b} \pm 0.00$	$0.13^{a} \pm 0.01$
สูตรที่ 5	$0.67^{ab} \pm 0.01$	$0.65^{ab} \pm 0.01$	$0.63^{ab} \pm 0.01$	$0.62^{b} \pm 0.00$	$0.59^{a} \pm 0.00$	$0.07^{cd} \pm 0.00$
สูตรที่ 6	$0.65^{c} \pm 0.00$	$0.64^{ab} \pm 0.01$	$0.64^{a} \pm 0.00$	$0.61^{b} \pm 0.00$	$0.59^{a} \pm 0.00$	$0.05^{d} \pm 0.00$
สูตรที่ 7	$0.66^{c} \pm 0.01$	$0.63^{b} \pm 0.02$	$0.61^{c} \pm 0.00$	$0.59^{c} \pm 0.01$	$0.54^{b} \pm 0.00$	$0.11^{ab} \pm 0.01$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

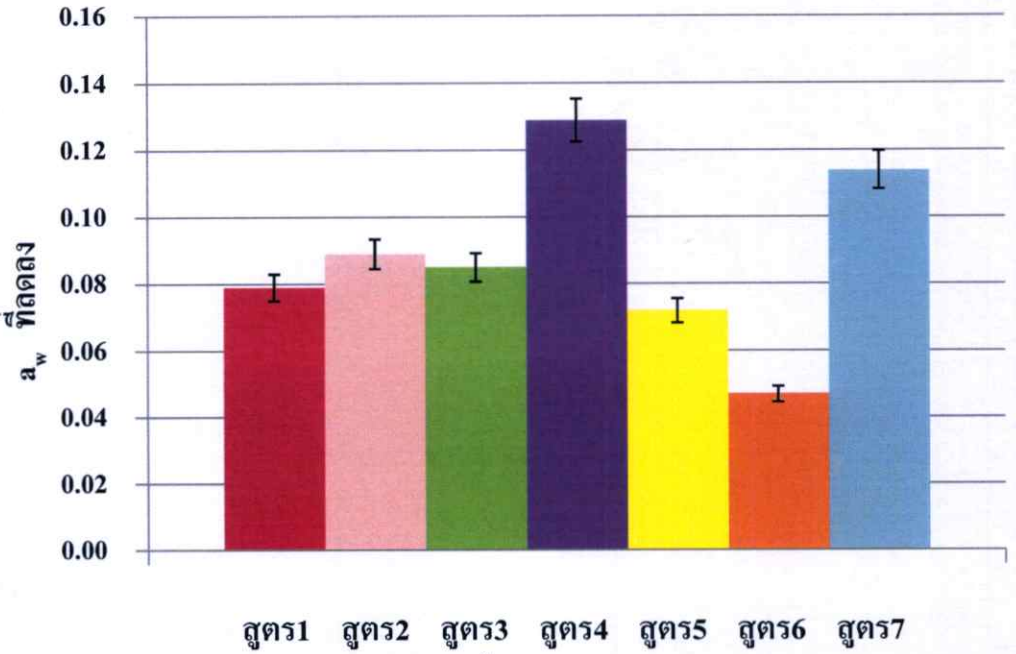
สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที



รูปที่ 4.12 แสดงค่า a_w ที่ลดลงของกุนเชียงทั้ง 7 สูตรเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

4.4.3 การวัดค่าสี

4.4.3.1 ค่า L*

ค่า L* คือค่าความสว่างในกุนเชียง จากการทดลอง เมื่อการเก็บรักษากุนเชียงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่า กุนเชียงทั้ง 7 สูตร มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่า L* ลดลง ยกเว้นกุนชียงสูตรที่ 7 มีค่า L* เพิ่มขึ้น แสดงดังตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.13

ตารางที่ 4.11 แสดงค่า L* ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

สูตรกุนเชียง	ค่าความสว่าง (L*)					ค่า L*ที่เปลี่ยนแปลง
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28	
สูตรที่1	$48.63^{a} \pm 0.28$	$46.79^{b} \pm 0.95$	$45.69^{c} \pm 0.71$	$43.18^{c} \pm 0.37$	$40.11^{cd} \pm 0.25$	$-8.52^{a} \pm 0.32$
สูตรที่ 2	$45.70^{d} \pm 0.48$	$43.60^{d} \pm 0.11$	$40.52^{e} \pm 0.22$	$41.74^{d} \pm 0.51$	$39.75^{e} \pm 0.11$	$-5.95^{c} \pm 0.57$
สูตรที่ 3	$45.80^{d} \pm 0.45$	$43.76^{cd} \pm 0.77$	$46.58^{b} \pm 0.43$	$41.22^{de} \pm 0.16$	$40.08^{cd} \pm 0.38$	$-5.71^{c} \pm 0.82$
สูตรที่ 4	$47.22^{c} \pm 0.43$	$43.74^{ac} \pm 0.32$	$44.21^{d} \pm 0.36$	$40.79^{e} \pm 0.43$	$39.47^{e} \pm 0.28$	$-7.68^{ab} \pm 0.22$
สูตรที่ 5	$47.94^{b} \pm 0.25$	$44.84^{c} \pm 0.71$	$44.30^{d} \pm 0.99$	$43.85^{c} \pm 0.37$	$40.42^{c} \pm 0.04$	$-7.52^{b} \pm 0.22$
สูตรที่ 6	$47.30^{bc} \pm 0.28$	$46.88^{b} \pm 0.81$	$45.18^{cd} \pm 0.71$	$46.06^{b} \pm 0.41$	$42.13^{b} \pm 0.56$	$-5.17^{c} \pm 0.73$
สูตรที่ 7	$46.89^{c} \pm 0.36$	$45.45^{a} \pm 0.25$	$45.05^{a} \pm 0.70$	$49.83^{a} \pm 0.26$	$52.04^{a} \pm 0.20$	$+5.14^{d} \pm 0.16$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

+ ค่าความสว่าง (L*) เพิ่มขึ้น - ค่าความสว่าง (L*) ลดลง

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

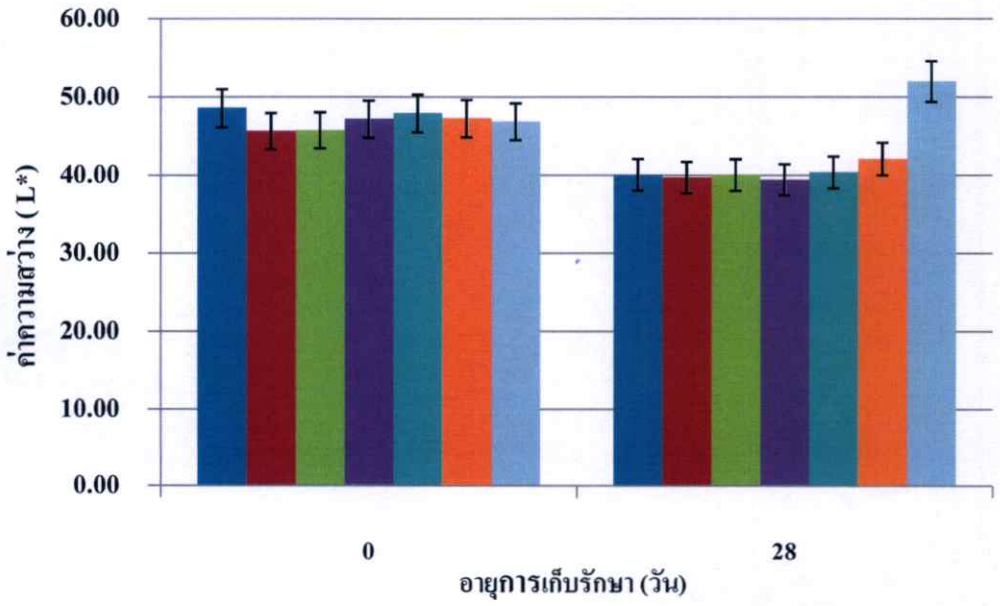
สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และบีเอชที



รูปที่ 4.13 แสดงความสว่าง (L*) ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน

4.4.3.2 ค่า a*

ค่าสีแดง (a*) เป็นค่าที่สำคัญที่สุดในผลิตภัณฑ์เชียง เนื่องจากผลิตภัณฑ์กุนเชียงมีสีแดงเป็นเอกลักษณ์ ในกระบวนการผลิตจึงมีการเติมไนไตรท์เป็นองค์ประกอบเมื่อทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบิน และผ่านการอบแห้ง (อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส) จะเกิดเป็นไนโตรโซฮีโมโครมให้สารสีแดง จากการศึกษากุนเชียงทั้ง 7 สูตร พบว่ากุนเชียงสูตรที่มีการเติมลูกเดือยสีแดง (สูตรที่ 2 5 และ 6) มีค่าสีแดง (a*) สูงกว่าสูตรอื่นๆรวมถึงสูตรมาตฐาน (สูตรที่ 1) ตลอดอายุการเก็บรักษา 28 วัน แสดงดังตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.14 ทั้งนี้เนื่องมาจากเชื้อ *M. purpureus* ผลิตสารสีพวกโมแนสซิน (monascin) อังคักฟลาวิน (ankaflavin) โรโบรพังตาติน (rubropunctatin) และโมแนสโครูบลามิน (monascorubramine) ซึ่งสารเหล่านี้คือสารสีแดงที่เชื้อสามารถผลิตได้ (Chen และ Johns. 1993) ทำให้กุนเชียงมีสีแดงเข้มขึ้น กว่ากุนเชียงสูตรอื่นที่ไม่ได้มีการเติมลูกเดือยสีแดงลงไป และสารสีแดงดังกล่าวจึงส่งผลต่อค่า a* ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง แต่เมื่อทำการเก็บรักษาในวันที่ 21 กุนเชียงสูตรที่มีการเติมลูกเดือยสีแดงมีแนวโน้มค่าสีแดง (a*) ลดลงเนื่องจาก แสง ความร้อน เป็นปัจจัยเร่งต่อการเสียสภาพและการเปลี่ยนเปลงของค่าสี (L*, a*, b*) ดังนั้นสารสีแดงจากเชื้อ *M. purpureus* จึงให้สีแดงไม่คงตัว (Galaup และคณะ. 2005) แต่ในสูตรมาตรฐาน (สูตรที่ 1) ถึงแม้ค่าสีแดง (a*) จะน้อยกว่ากุนเชียงสูตรที่มีการเติมลูกเดือยสีแดง แต่จะเห็นได้ว่าค่าสีแดง (a*) ลดลงเล็กน้อยและคงที่ตลอดอายุการเก็บรักษา 28 วัน ที่ค่าสีแดงในสูตรมาตรฐานลดลงเนื่องจาก สีแดงที่เกิดจากไนไตรท์จะไม่คงตัวเนื่องจาก แสง รังสียูวี และความร้อน (Honikel. 2008) กุนเชียงสูตรที่ 5และ 6 มีค่าสีแดงสูงสุด คือ ระหว่าง 11.48 และ 11.54 ตามลำดับ ในวันที่ 28 ขณะที่กุนเชียงสูตรที่ 7 ม่ค่าสีแดง (a*) น้อยที่สุด 7.27 จากการทดลองจะพบว่าสูตรที่ 1 2 3 4 5 และ6 มีค่าสีแดงเพิ่มขึ้น ยกเว้นกุนเชียงสูตรที่ 7 ที่มีค่าสีแดง (a*) ลดลง เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

ตารางที่ 4.12 แสดงค่าสีแดง (a*) ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

สูตรกุนเชียง	ค่าสีแดง (a*)					ค่า a* ที่เปลี่ยนแปลง
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28	
สูตรที่1	$8.53^{c} \pm 0.07$	$9.36^{d} \pm 0.03$	$11.77^{c} \pm 0.05$	$11.39^{b} \pm 0.05$	$10.88^{c} \pm 0.03$	$+2.35^{a} \pm 0.05$
สูตรที่ 2	$10.72^{b} \pm 0.02$	$11.03^{f} \pm 0.03$	$12.24^{b} \pm 0.07$	$11.83^{a} \pm 0.07$	$11.15^{b} \pm 0.03$	$+0.43^{d} \pm 0.05$
สูตรที่ 3	$8.27^{d} \pm 0.02$	$8.37^{f} \pm 0.03$	$9.18^{e} \pm 0.02$	$8.76^{d} \pm 0.02$	$8.44^{e} \pm 0.05$	$+0.17^{e} \pm 0.07$
สูตรที่ 4	$7.36^{e} \pm 0.02$	$8.40^{e} \pm 0.07$	$9.64^{d} \pm 0.05$	$8.92^{c} \pm 0.05$	$8.68^{d} \pm 0.09$	$+0.62^{c} \pm 0.09$
สูตรที่ 5	$11.04^{a} \pm 0.04$	$11.38^{b} \pm 0.03$	$12.33^{a} \pm 0.03$	$11.78^{a} \pm 0.03$	$11.48^{a} \pm 0.06$	$+0.44^{d} \pm 0.10$
สูตรที่ 6	$10.64^{b} \pm 0.02$	$11.96^{a} \pm 0.07$	$12.34^{a} \pm 0.06$	$11.83^{a} \pm 0.06$	$11.54^{a} \pm 0.04$	$+0.89^{b} \pm 0.03$
สูตรที่ 7	$7.33^{e} \pm 0.11$	$8.48^{e} \pm 0.03$	$7.65^{f} \pm 0.04$	$7.52^{e} \pm 0.04$	$7.27^{f} \pm 0.03$	$-0.72^{f} \pm 0.12$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

+ ค่าสีแดง (a*) เพิ่มขึ้น - ค่าสีแดง a* ลดลง

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณ ไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

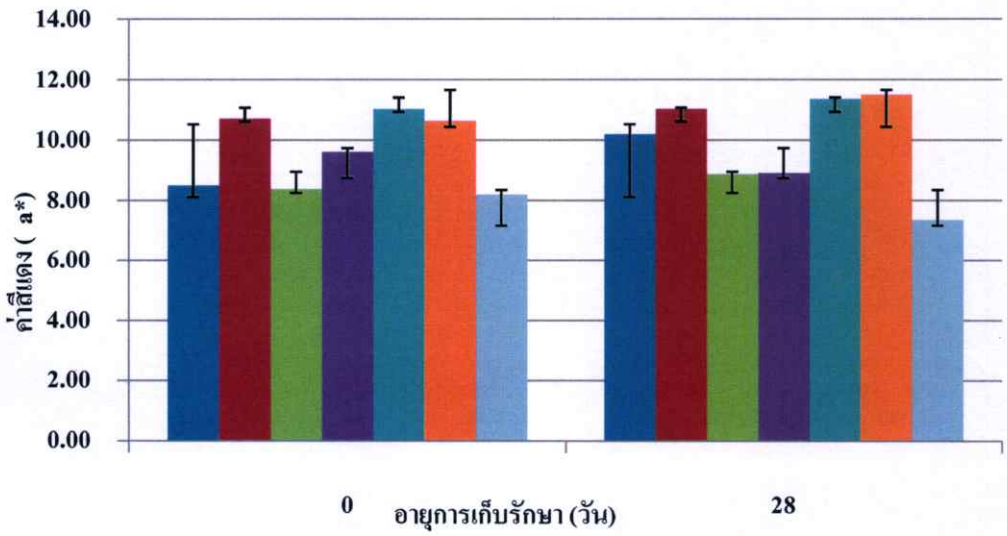
สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที



รูปที่ 4.14 แสดงค่าสีแดง (a*) ที่เปลี่ยนแปลงของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาเวลา 28 วัน

4.4.3.3 ค่า b*

ค่าสีเหลือง (b*) ในกุนเชียง จากการทดลองพบว่า เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน ผลิตภัณฑ์กุนเชียงทุกสูตรมีแนวโน้มค่า b* ลดลง โดยในวันที่ 0 กุนเชียงทั้ง 7 สูตร มีค่า b* อยู่ในช่วง 10.90-12.60 เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า ค่า b* ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร ลดลงอยู่ในช่วง 7.17-11.17 ดังแสดงในตารางที่ 4.13 และ รูปที่ 4.15 โดยค่า b* ที่ลดลงเป็นผลมาจากแสง ความร้อน เป็นปัจจัยเร่งต่อการเสื่อมสภาพและการเปลี่ยนแปลงของค่าสี (L*, a*, b*) (Galaup และคณะ. 2005)

ตารางที่ 4.13 แสดงค่าสีเหลือง(b*) ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

สูตรกุนเชียง	ค่าสีเหลือง (b*)					ค่า b* ที่เปลี่ยนแปลง
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28	
สูตรที่1	$11.46^{c} \pm 0.10$	$11.34^{b} \pm 0.12$	$10.49^{c} \pm 0.36$	$11.37^{a} \pm 0.04$	$10.57^{b} \pm 0.26$	$- 0.89^{d} \pm 0.34$
สูตรที่ 2	$10.90^{d} \pm 0.11$	$10.93^{c} \pm 0.17$	$10.12^{c} \pm 0.10$	$9.50^{c} \pm 0.15$	$9.12^{c} \pm 0.05$	$- 1.17^{c} \pm 0.09$
สูตรที่ 3	$10.28^{e} \pm 0.12$	$10.41^{d} \pm 0.03$	$10.22^{c} \pm 0.21$	$10.48^{b} \pm 0.31$	$7.17^{e} \pm 0.23$	$- 3.11^{a} \pm 0.19$
สูตรที่ 4	$10.98^{a} \pm 0.09$	$12.14^{a} \pm 0.04$	$11.38^{b} \pm 0.38$	$10.67^{b} \pm 0.17$	$11.11^{a} \pm 0.20$	$+ 1.70^{c} \pm 0.29$
สูตรที่ 5	$12.42^{b} \pm 0.11$	$12.11^{a} \pm 0.03$	$12.12^{a} \pm 0.07$	$11.27^{a} \pm 0.21$	$10.27^{b} \pm 0.19$	$- 2.29^{b} \pm 0.24$
สูตรที่ 6	$12.60^{b} \pm 0.06$	$12.15^{a} \pm 0.10$	$12.11^{a} \pm 0.04$	$11.57^{a} \pm 0.28$	$10.54^{b} \pm 0.17$	$- 2.06^{bc} \pm 0.11$
สูตรที่ 7	$9.20^{f} \pm 0.02$	$9.33^{e} \pm 0.06$	$8.77^{d} \pm 0.26$	$8.84^{d} \pm 0.12$	$8.53^{d} \pm 0.25$	$- 0.61^{d} \pm 0.26$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

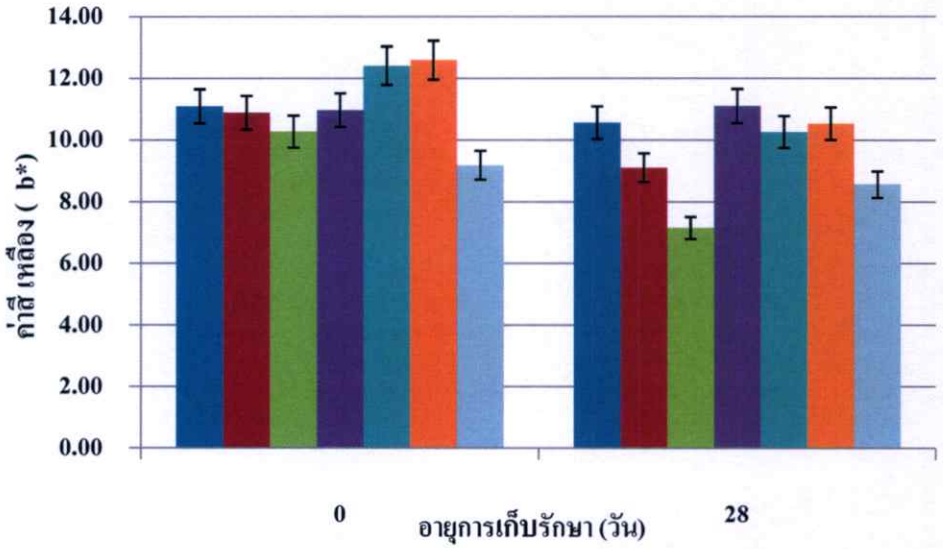
สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ
(สูตรควบคุม) บีเอชที



รูปที่ 4.15 แสดงสีเหลือง (b*) ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน

4.4.4 ค่าทีบีเอ

การเหม็นหืน เกิดจากการปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน โดยเป็นการวัดสารประกอบพวกมาโลนัลดีไฮด์ ซึ่งเป็นตัวที่เกิดจากการเสื่อมเสียของ ลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ โดยสารประกอบนี้ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืนในอาหารที่มีปริมาณไขมันสูง (Laguerre และคณะ. 2007) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ สำหรับในผลิตภัณฑ์กุนเชียงไขมันเป็นองค์ประกอบสำคัญจึงสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ จากการเก็บกุนเชียง7 สูตรที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน ค่าทีบีเอเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา ผลค่าทีบีเอ แสดง ดังตารางที่ 4.14 และ รูปที่ 4.16 กุนเชียงสูตรที่ใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมักร่วมกับไนไตรท์ (สูตรที่ 5) และกุนเชียงสูตรที่ใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมักร่วมกับไนไตรท์ โซเดียมเบนโซเอท บีเอทที (สูตรที่ 6) มีค่าทีบีเอต่ำกว่ากุนเชียงสูตรมาตรฐานที่ใช้ไนไตรท์ปริมาณสูงสุด 125 พีพีเอ็ม (สูตรที่ 1) อย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากธาตุเหล็กในรูปเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ที่มีอยู่ในไมโอโกลบิน (myoglobin) เมื่อรวมตัวกับไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ได้จากการเติมไนไตรท์ ทำให้ธาตุเหล็กในรูปเฟอร์รัส (Fe^{2+}) กลายเป็นธาตุเหล็กในรูปเฟอร์ริก (Fe^{3+}) ซึ่งสามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน กับกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้ (Laguerre และคณะ. 2007) แต่สำหรับสารสีแดงจากเชื้อ *M. purpureus* มีสารโมนาโคลิน เค (monacolin K) ซึ่งสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและการเกิดอนุมูลอิสระ DPPH (Tseng และคณะ.

2006) และ จากงานวิจัยของ Wong และ Bau (1977) ซึ่งมีการรายงานว่าเชื้อ *M. purpureus* สามารถสร้างสารแอนติออกซิแดนซ์ เช่น กรดไดเมอร์รูมิค (dimerumic acid) และ 3-hydoxy-4-methoxy-benzoic acid ทำให้สามารถลดค่าทีบีเอ หรือชะลอการหืน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของกิติศาสตร์ กระบวน และคณะ (2010) ที่ศึกษาผลของสารสีโมแนสคัส จากปลายข้าวในการยับยั้งการหืนในผลิตภัณฑ์กุนเชียงหมู พบว่ากุนเชียงหมูที่มีการใช้ข้าวแดงที่ได้จากการหมักโดยเชื้อโมแนสคัสร้อยละ 1 มีค่า TBARS ต่ำสุด โดยต่ำกว่ากุนเชียงทุกสูตรรวมถึงกุนเชียงสูตรมาตรฐานที่มีการใช้ไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม และทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 28 วัน ดังนั้นสารสีที่ผลิตได้จากเชื้อโมแนสคัส สามารถลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน หรือความหืนในกุนเชียงได้ โดยลูกเดือยที่ได้จากการหมักจะต้องใช้ร่วมกับสารอื่นด้วยจะได้ผลดีที่สุด เช่น กุนเชียงในสูตรที่ 6 ซึ่งมีการใช้บีเอชทีร่วมด้วย จึงทำให้ค่าความหืนในกุนเชียงเพิ่มขึ้นไม่มากนัก

ตารางที่ 4.14 แสดงค่าทีบีเอ ของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน

สูตรกุนเชียง	ค่า TBARS (มิลลิกรัมมาโลนาดีไฮด์ต่อกิโลกรัม)					ค่า TBARS ที่เพิ่มขึ้น
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28	
สูตรที่ 1	$3.50^{f} \pm 0.03$	$4.43^{d} \pm 0.04$	$4.86^{d} \pm 0.03$	$5.02^{d} \pm 0.06$	$6.23^{e} \pm 0.05$	$2.72^{d} \pm 0.05$
สูตรที่ 2	$4.25^{b} \pm 0.04$	$4.85^{b} \pm 0.03$	$5.04^{c} \pm 0.02$	$5.29^{c} \pm 0.01$	$7.72^{c} \pm 0.11$	$3.46^{c} \pm 0.14$
สูตรที่ 3	$4.27^{b} \pm 0.02$	$4.36^{e} \pm 0.06$	$5.22^{b} \pm 0.02$	$5.41^{b} \pm 0.01$	$9.18^{b} \pm 0.13$	$4.91^{b} \pm 0..14$
สูตรที่ 4	$3.93^{c} \pm 0.05$	$4.89^{b} \pm 0.03$	$4.85^{d} \pm 0.05$	$5.04^{d} \pm 0.04$	$6.64^{d} \pm 0.07$	$2.71^{d} \pm 0.04$
สูตรที่ 5	$3.81^{d} \pm 0.01$	$4.33^{e} \pm 0.01$	$4.76^{e} \pm 0.04$	$4.93^{e} \pm 0.07$	$6.15^{e} \pm 0.29$	$2.33^{e} \pm 0.11$
สูตรที่ 6	$3.69^{e} \pm 0.00$	$4.64^{c} \pm 0.03$	$4.80^{de} \pm 0.02$	$4.88^{e} \pm 0.01$	$5.92^{f} \pm 0.03$	$2.22^{e} \pm 0.03$
สูตรที่ 7	$4.90^{a} \pm 0.03$	$5.27^{a} \pm 0.01$	$5.60^{a} \pm 0.01$	$6.10^{a} \pm 0.05$	$10.32^{a} \pm 0179$	$5.43^{a} \pm 0.15$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนักไม่เติมไนไตรท์

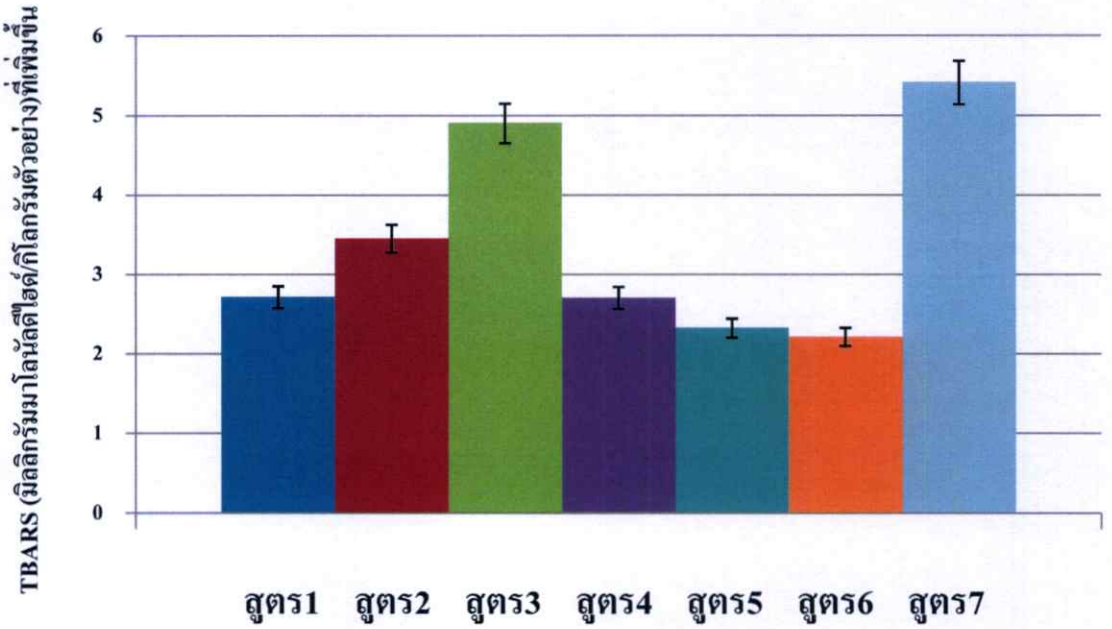
สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนักไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20

พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที



รูปที่ 4.16 แสดงค่าทีบีเอที่เพิ่มขึ้นของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน

4.4.5 การตรวจสอบทางจุลินทรีย์

4.4.5.1 การตรวจสอบจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด

จากการตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยเทคนิค Standard plate count ใช้อาหาร Plate count agar (PCA) พบว่าวันแรก (วันที่ 0) กุนเชียงทั้ง 7 สูตรมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 1.92 -2.33 log CFUต่อกรัม เมื่อเก็บรักษากุนเชียงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่ากุนเชียงทั้ง 7 สูตร มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะกุนเชียงในสูตรที่ 7 มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงสุด 5.11 log CFUต่อกรัม ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกุนเชียงสูตรอื่นๆ (คิดเป็นจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น 2.89 log CFUต่อกรัม) ขณะที่กุนเชียงสูตรที่ 1 ซึ่งเติมไนไตรท์อย่างเดียว 125 พีพีเอ็ม และกุนเชียงสูตรที่ 2 5 และ6 ซึ่งใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมักเป็นส่วนผสมในการทำกุนเชียง มี

ปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 28 คือ เพิ่มขึ้น 1.12 1.43 1.21 และ 1.14 log CFUต่อกรัม ตามลำดับซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) จากผลการทดลองดังกล่าวโดยเฉพาะในกุนเชียงสูตรที่ 2 แสดงให้เห็นว่าสารสีแดงที่ได้จากการหมักของเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 สามารถช่วยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยเชื้อสามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ (บุษบา ยงสมิทธ์. 2540) สารที่เชื้อผลิตได้คือ โมนาสซิดิน เอ (monascidin A) สารดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Steptococcus lactis*, *Pseudomonas fluorescens* (Blanc และคณะ. 1995) และ *Staphylococcus aureus* (Fink-Gremmels และคณะ. 1997) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Marian Ferdes และคณะ (2004) ที่พบว่าสารจากข้างแดงที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Monascus* sp. สามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis*, *Pseudomanas aeruginosa* และ *Echerichia coli* และ งานวิจัยของ เสาวนิตย์ และคณะ (2011) พบว่าสารสีจากเชื้อโมแนสคัสสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ*Aeromanas hydrophila* TISTR1321 ขณะเดียวกันไนไตรท์ที่เติมลงในกุนเชียงมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้เช่นกัน จึงเป็นสาเหตุให้กุนเชียงสูตรที่ 1 5 และ6 มีการเพิ่มของจำนวนจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อย และเมื่อเก็บรักษากุนเชียงไว้เป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส กุนเชียงทุกสูตรยกเว้นสูตรที่ 7 มีจำนวนจุลินทรีย์ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์ชุมชน(มผช. 103/2546)ของผลิตภัณฑ์กุนเชียงหมูที่กำหนดไว้ (กุนเชียงต้องมีจำนวนจุลินทรีย์ไม่เกิน 1 x 10^5 CFUต่อกรัม หรือ 5 log CFUต่อกรัม) แสดงดังตารางที่ 4.15 และ รูปที่ 4.17

ตารางที่ 4.15 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน

สูตรกุนเชียง	จำนวนจุลินทรีย์ (log CFU / กรัม)					จำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28	
สูตรที่ 1	$1.92^{d} \pm 0.02$	$2.42^{c} \pm 0.01$	$2.63^{d} \pm 0.0$	$2.82^{d} \pm 0.01$	$3.04^{e} \pm 0.04$	$1.12^{e} \pm 0.05$
สูตรที่ 2	$2.31^{a} \pm 0.01$	$2.62^{b} \pm 0.02$	$2.71^{c} \pm 0.01$	$2.94^{c} \pm 0.01$	$3.74^{c} \pm 0.1$	$1.43^{bc} \pm 0.09$
สูตรที่ 3	$2.04^{c} \pm 0.03$	$2.43^{c} \pm 0.01$	$2.62^{d} \pm 0.01$	$2.73^{e} \pm 0.01$	$3.40^{d} \pm 0.06$	$1.36^{cd} \pm 0.01$
สูตรที่ 4	$2.33^{a} \pm 0.01$	$2.62^{c} \pm 0.02$	$2.82^{b} \pm 0.01$	$3.21^{b} \pm 0.01$	$3.91^{b} \pm 0.05$	$1.58^{b} \pm 0.03$
สูตรที่ 5	$2.22^{b} \pm 0.02$	$2.11^{d} \pm 0.01$	$2.62^{d} \pm 0.02$	$2.92^{c} \pm 0.01$	$3.43^{d} \pm 0.05$	$1.21^{de} \pm 0.06$
สูตรที่ 6	$1.92^{d} \pm 0.00$	$2.41^{c} \pm 0.01$	$2.62^{d} \pm 0.01$	$2.83^{d} \pm 0.00$	$3.15^{e} \pm 0.06$	$1.14^{e} \pm 0.04$
สูตรที่ 7	$2.33^{a} \pm 0.00$	$3.02^{a} \pm 0.00$	$4.13^{a} \pm 0.00$	$5.11^{a} \pm 0.07$	$5.22^{a} \pm 0.01$	$2.89^{a} \pm 0.00$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

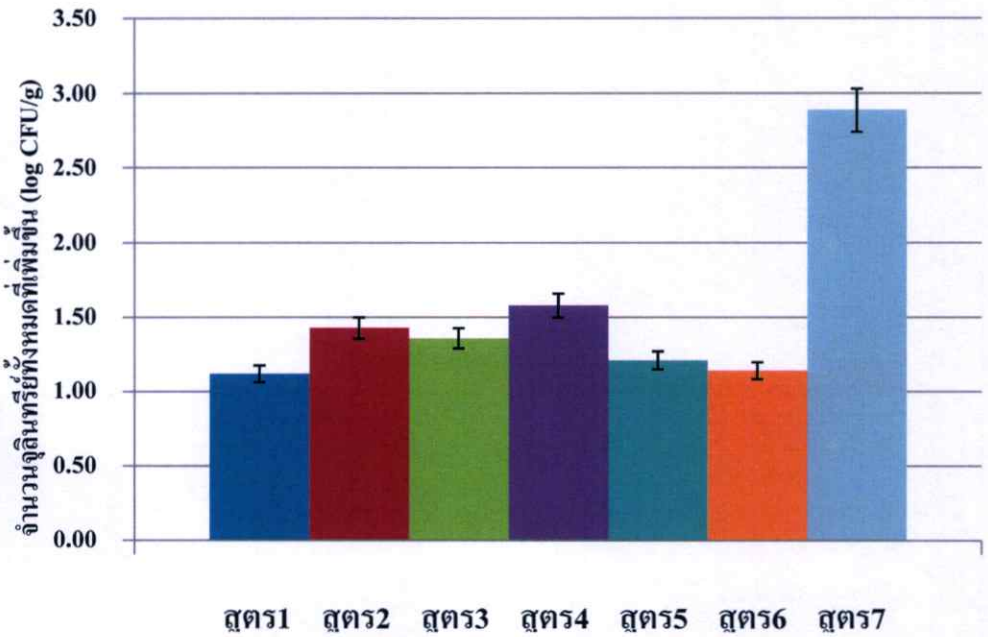
สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนักไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนักไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที



รูปที่ 4.17 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน

4.4.5.2 การตรวจสอบจำนวนยีสต์และรา

จากการเก็บรักษากุนเชียงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่าวันแรก (วันที่ 0) กุนเชียงทั้ง 7 สูตร มีจำนวนยีสต์และราน้อยมาก บางสูตรแทบตรวจไม่พบเชื้อยีสต์และรา เมื่อเก็บรักษานานขึ้นจำนวนเชื้อยีสต์และราในกุนเชียงแต่ละสูตรจะเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มขึ้นในปริมาณเล็กน้อย วันที่ 28 พบว่า กุนเชียงสูตรที่ 7 จะมีจำนวนยีสต์และรา คือ 6.32 log CFUต่อกรัม ขณะที่กุนเชียงสูตรที่ 1 5 และ 6 มีจำนวนเชื้อยีสต์และรา คือ 2.92 2.99 และ 2.72 log CFUต่อกรัม ตามลำดับ และกุนเชียงสูตรที่ 6 มีจำนวนเชื้อยีสต์และราเพิ่มขึ้นน้อยกว่ากุนเชียงสูตรอื่นๆ วันที่ 14 ของการเก็บรักษา จำนวนยีสต์และราในกุนเชียงสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรมาตรฐานและ สูตรที่ 5 และ 6 มีจำนวนยีสต์และราอยู่ในช่วง 2 log CFUต่อกรัม ซึ่งไม่เกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. 103/2546) ที่กำหนดว่าในผลิตภัณฑ์กุนเชียงหมูสามารถพบยีสต์และราได้ไม่เกิน 2 log CFUต่อกรัม ขณะที่กุนเชียงสูตรอื่นๆ มีจำนวนยีสต์และราเกินมาตรฐาน เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน กุนเชียงทุกสูตรมีจำนวนยีสต์และราเกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ดังนั้นจากการทดลองพบว่าสามารถเก็บรักษากุนเชียงสูตรที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักเป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 5 และ6) ได้ 14 วัน แต่กุนเชียงสูตรอื่น สามารถเก็บได้น้อยกว่า 14 วัน หลังจากนั้นยีสต์และราเกินมาตรฐาน สำหรับกุนเชียงสูตรที่ 3 ที่มีโซเดียมเบนโซเอทเป็นส่วนประกอบมีปริมาณยีสต์และราเกินมาตรฐานเนื่องจาก โซเดียมเบนโซเอทมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในช่วง พีเอช 2.5-4.0 (Bandalin. 1958) ซึ่งกุนเชียงที่ผลิตได้มีพีเอชในช่วง 5.6-6.5 อาจมีผลทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของโซเดียมเบนโซเอท ลดลง ขณะเดียวกันความเข้มข้นของโซเดียมเบนโซเอทที่ใช้ในการทดลองนี้มีความเข้มข้นน้อย คือ ร้อยละ 0.02 ทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ลดลงไปอีก

ตารางที่ 4.16 แสดงจำนวนยีสต์และราของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน

สูตรกุนเชียง	จำนวนยีสต์และรา (log CFU ต่อกรัม)					จำนวนยีสต์และราที่เพิ่มขึ้น
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28	
สูตรที่ 1	$< 1x10^{2c} \pm 0.00$	$< 1x10^{2d} \pm 0.00$	$2.00^{e} \pm 0.00$	$2.15^{f} \pm 0.04$	$2.92^{e} \pm 0.02$	$2.93^{d} \pm 0.02$
สูตรที่ 2	$2.00^{b} \pm 0.00$	$2.00^{c} \pm 0.00$	$2.31^{d} \pm 0.01$	$2.84^{c} \pm 0.01$	$3.29^{d} \pm 0.08$	$3.14^{c} \pm 0.02$
สูตรที่ 3	$< 1x10^{2c} \pm 0.00$	$< 1x10^{2d} \pm 0.00$	$2.53^{c} \pm 0.01$	$2.60^{d} \pm 0.06$	$3.11^{e} \pm 0.05$	$3.23^{b} \pm 0.03$
สูตรที่ 4	$2.00^{b} \pm 0.00$	$2.31^{b} \pm 0.01$	$2.71^{b} \pm 0.01$	$3.31^{b} \pm 0.01$	$3.95^{b} \pm 0.03$	$3.27^{b} \pm 0.02$
สูตรที่ 5	$< 1x10^{2c} \pm 0.00$	$< 1x10^{2d} \pm 0.00$	$2.00^{e} \pm 0.00$	$2.43^{e} \pm 0.02$	$2.99^{e} \pm 0.06$	$3.07^{c} \pm 0.02$
สูตรที่ 6	$< 1x10^{2c} \pm 0.00$	$< 1x10^{2d} \pm 0.00$	$2.00^{e} \pm 0.00$	$2.33^{e} \pm 0.02$	$2.72^{f} \pm 0.01$	$2.72^{e} \pm 0.01$
สูตรที่ 7	$2.42^{a} \pm 0.00$	$2.62^{a} \pm 0.01$	$3.42^{a} \pm 0.01$	$5.32^{a} \pm 0.02$	$6.32^{a} \pm 0.02$	$3.98^{a} \pm 0.04$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณ ไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

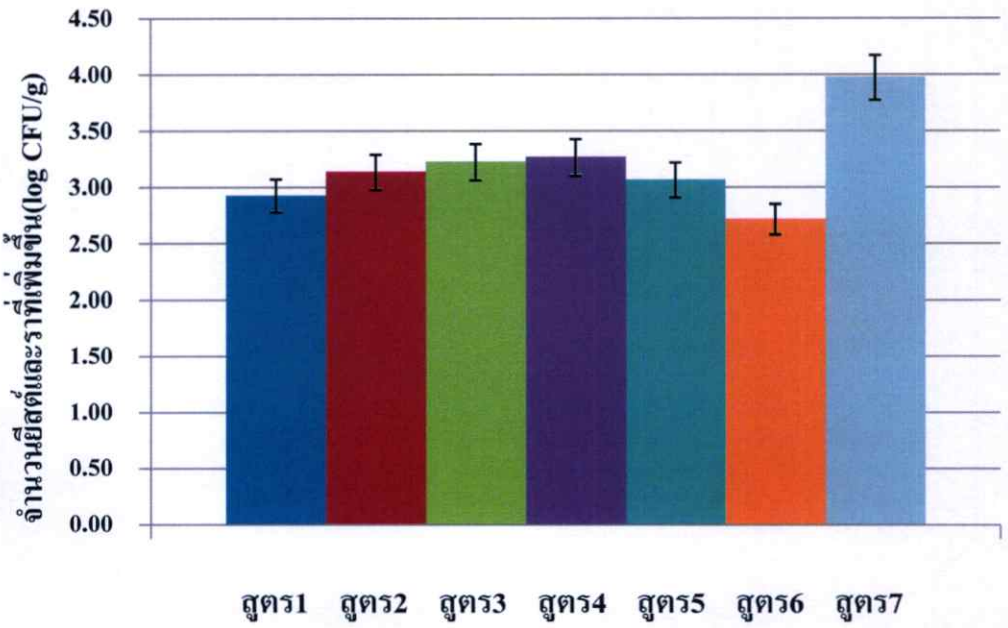
สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนักไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนักไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที



รูปที่ 4.18 แสดงจำนวนยีสต์และราที่เพิ่มขึ้นของกุนเชียงทั้ง 7 สูตรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน

4.4.6 การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน โดยทำการทดสอบทางด้านสี เนื้อสัมผัส ความแน่นเนื้อ ความชุ่มฉ่ำ ความสม่ำเสมอ กลิ่นรส และการยอมรับโดยรวม โดยให้คะแนนแบบ 9-point Hedonic scale มีผู้ทดสอบ 15 คน

4.4.6.1 สี

กุนเชียงทั้ง 7 สูตร มีค่าสีในวันแรก (วันที่ 0) ใกล้เคียงกัน โดยสูตรที่ 1 5 และ6 มีคะแนนทางด้านสีสูงกว่ากุนเชียงสูตรอื่น เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน พบว่ากุนเชียงทุกสูตรมีคะแนนค่าสีลดลง กุนเชียงสูตรที่ 5 และ 6 ซึ่งมีลูกเดือยที่ได้จากการหมักเป็นส่วนประกอบได้รับคะแนนทางด้านสีค่อนข้างสูง และสูงกว่าสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรมาตรฐาน สำหรับกุนเชียงสูตรที่ 7 ได้รับคะแนนทางด้านสีน้อยที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 4.17

ตารางที่ 4.17 แสดงคะแนนความชอบด้านสีของผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน

สูตรกุนเชียง	อายุการเก็บรักษา (วัน)				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
สูตรที่ 1	$7.33^{abc} \pm 1.11$	8.13 ± 1.19	7.20 ± 1.70	6.87 ± 1.06	$7.13^{bc} \pm 0.79$
สูตรที่ 2	$6.60^{bcd} \pm 1.05$	7.87 ± 1.64	7.40 ± 1.55	7.33 ± 1.23	$7.06^{bcd} \pm 1.25$
สูตรที่ 3	$5.86^{d} \pm 1.95$	6.80 ± 1.57	7.20 ± 1.47	6.33 ± 1.45	$6.53^{cd} \pm 1.06$
สูตรที่ 4	$6.33^{cd} \pm 1.63$	7.47 ± 1.13	7.41 ± 1.35	6.73 ± 1.10	$6.20^{d} \pm 0.92$
สูตรที่ 5	$8.20^{a} \pm 1.08$	8.93 ± 0.96	8.40 ± 1.30	8.27 ± 1.22	$7.66^{ab} \pm 1.33$
สูตรที่ 6	$7.60^{ab} \pm 1.72$	7.73 ± 1.22	8.53 ± 1.25	8.47 ± 1.19	$8.06^{a} \pm 1.18$
สูตรที่ 7	$6.53^{bcd} \pm 0.91$	6.20 ± 1.37	5.93 ± 1.39	5.93 ± 1.39	$5.13^{e} \pm 0.79$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติม ไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที

4.4.6.2 เนื้อสัมผัส

ผลการประเมินทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร พบว่า ในวันที่ 0 กุนเชียงทุกสูตรมีลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัสใกล้เคียงกัน เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน พบว่า กุนเชียงสูตรที่ 6 จะได้คะแนนทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสสูงที่สุด โดยมีคะแนน 7.73 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับกุนเชียงสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรมาตรฐาน ขณะที่กุนเชียงสูตรที่ 7 มีคะแนนทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสต่ำสุด โดยมีคะแนน 5.66 ซึ่งลักษณะเนื้อสัมผัสของกุนเชียงสูตรที่ 7 มีลักษณะไม่แน่นเนื้อ มีลักษณะเป็นยางเมื่อผ่านการให้ความร้อน (ทอด) แสดงดังตารางที่ 4.18

ตารางที่ 4.18 แสดงคะแนนความชอบด้านเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้ง 7 สูตรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน

สูตรกุนเชียง	อายุการเก็บรักษา				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
สูตรที่ 1	$6.86^{a} \pm 1.73$	7.47 ± 1.25	6.87 ± 1.77	6.67 ± 1.50	$7.46^{a} \pm 01.25$
สูตรที่ 2	$5.80^{a} \pm 1.15$	7.33 ± 1.18	5.53 ± 1.55	6.47 ± 1.46	$7.53^{a} \pm 1.13$
สูตรที่ 3	$6.13^{a} \pm 1.73$	7.33 ± 1.23	7.33 ± 1.63	7.00 ± 1.36	$6.53^{b} \pm 1.41$
สูตรที่ 4	$6.20^{a} \pm 1.86$	7.20 ± 0.86	8.00 ± 1.13	7.53 ± 1.19	$7.20^{a} \pm 1.37$
สูตรที่ 5	$6.90^{a} \pm 1.31$	7.93 ± 1.33	7.87 ± 1.26	7.67 ± 1.11	$7.40^{a} \pm 1.24$
สูตรที่ 6	$7.06^{a} \pm 1.83$	7.27 ± 0.80	7.93 ± 1.22	7.93 ± 1.22	$7.73^{a} \pm 1.53$
สูตรที่ 7	$6.06^{a} \pm 1.49$	6.03 ± 1.19	6.67 ± 1.23	6.67 ± 1.23	$5.66^{b} \pm 1.40$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

(สูตรมาตรฐาน)

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที

4.4.6.3 ความแน่นเนื้อ

ผลการประเมินทางด้านเนื้อสัมผัสของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร พบว่า ในวันที่ 0 กุนเชียงทุกสูตรมีคะแนนทางด้านนี้ใกล้เคียงกัน เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน พบว่ากุนเชียงสูตรที่ 6 จะได้รับคะแนนความแน่นเนื้อสูงสุด คือ 8.00 และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับกุนเชียงสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรมาตรฐาน กุนเชียงสูตรที่ 7 ได้รับคะแนนความแน่นเนื้อน้อยที่สุด คือ 5.66 ดังแสดงในตารางที่ 4.19

ตารางที่ 4.19 แสดงคะแนนความชอบด้านความแน่นเนื้อของผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน

สูตรกุนเชียง	อายุการเก็บรักษา (วัน)				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
สูตรที่ 1	$6.53^{a} \pm 1.53$	8.00 ± 0.76	7.50 ± 0.99	7.00 ± 1.00	$7.46^{ab} \pm 1.25$
สูตรที่ 2	$6.53^{a} \pm 1.60$	6.80 ± 1.57	6.70 ± 1.68	6.62 ± 1.64	$7.53^{ab} \pm 1.25$
สูตรที่ 3	$6.46^{a} \pm 1.36$	7.53 ± 1.51	7.60 ± 1.84	7.13 ± 1.46	$6.53^{cd} \pm 1.68$
สูตรที่ 4	$6.26^{a} \pm 1.40$	7.20 ± 1.08	8.10 ± 1.22	7.54 ± 1.13	$7.26^{ab} \pm 0.88$
สูตรที่ 5	$6.73^{a} \pm 1.44$	6.67 ± 1.11	8.20 ± 1.61	8.00 ± 1.56	$7.26^{ab} \pm 1.16$
สูตรที่ 6	$7.16^{a} \pm 1.48$	7.13 ± 0.99	7.61 ± 1.40	7.64 ± 1.40	$8.00^{a} \pm 1.00$
สูตรที่ 7	$6.53^{a} \pm 1.36$	6.80 ± 1.42	6.50 ± 1.60	6.46 ± 1.60	$5.66^{c} \pm 1.45$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และบีเอชที

4.4.6.4 ความชุ่มฉ่ำ

ผลการประเมินทางด้านความชุ่มฉ่ำของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร พบว่า ในวันที่ 0 กุนเชียงทุกสูตรมีคะแนนทางด้านความชุ่มฉ่ำใกล้เคียงกัน เมื่อเก็บรักษากุนเชียงเป็นเวลา 28 วัน พบว่ากุนเชียงทุกสูตรมีคะแนนความชุ่มฉ่ำลดลง โดยกุนเชียงสูตรที่ 5 จะได้รับคะแนนความชุ่มฉ่ำสูงสุด และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับกุนเชียงสูตรที่ 1 ซึ่ง เป็นสูตรมาตรฐาน แสดงดังตารางที่ 4.20

ตารางที่ 4.20 แสดงคะแนนความชอบด้านความชุ่มฉ่ำของผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน

สูตรกุนเชียง	อายุการเก็บรักษา (วัน)				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
สูตรที่ 1	$6.73^{a} \pm 1.58$	8.13 ± 0.83	7.47 ± 0.92	6.87 ± 1.06	$7.86^{a} \pm 0.92$
สูตรที่ 2	$5.80^{a} \pm 1.66$	6.14 ± 1.13	6.73 ± 1.87	6.60 ± 1.76	$6.40^{b} \pm 1.18$
สูตรที่ 3	$6.73^{a} \pm 1.28$	7.87 ± 1.51	7.40 ± 1.80	7.13 ± 1.51	$6.66^{b} \pm 1.54$
สูตรที่ 4	$6.53^{a} \pm 1.53$	7.47 ± 0.92	7.43 ± 1.10	7.60 ± 0.74	$7.06^{ab} \pm 0.70$
สูตรที่ 5	$6.73^{a} \pm 1.49$	8.13 ± 1.05	7.67 ± 1.29	7.67 ± 1.29	$7.86^{a} \pm 0.83$
สูตรที่ 6	$6.53^{a} \pm 1.19$	7.40 ± 1.24	7.46 ± 1.60	7.47 ± 1.60	$7.60^{a} \pm 1.06$
สูตรที่ 7	$6.80^{a} \pm 1.66$	6.73 ± 1.39	6.60 ± 1.72	6.53 ± 1.72	$6.06^{c} \pm 1.16$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติมไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที

4.4.6.5 ความสม่ำเสมอของสีกุนเชียง

ผลการประเมินทางด้านความสม่ำเสมอของสีกุนเชียงทั้ง 7 สูตร พบว่า ในวันที่ 0 กุนเชียงทุกสูตรมีคะแนนทางด้านความสม่ำเสมอของสีใกล้เคียงกัน เมื่อเก็บรักษากุนเชียงเป็นเวลา 28 วัน พบว่ากุนเชียงสูตรที่ 6 มีคะแนนสูงสุด คือ 7.86 และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกุนเชียงสูตรที่ 1 ขณะที่กุนเชียงสูตรที่ 7 จะได้รับคะแนนต่ำสุดคือ 6.20 แสดงดังตารางที่ 4.21

ตารางที่ 4.21 แสดงคะแนนความชอบด้านความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน

สูตรกุนเชียง	อายุการเก็บรักษา (วัน)				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
สูตรที่ 1	$7.20^{a} \pm 1.26$	8.13 ± 0.99	7.14 ± 1.13	7.07 ± 0.88	$7.26^{a} \pm 1.33$
สูตรที่ 2	$6.86^{a} \pm 1.13$	6.53 ± 0.90	7.13 ± 1.13	7.02 ± 1.10	$7.20^{a} \pm 1.01$
สูตรที่ 3	$6.73^{a} \pm 1.30$	7.87 ± 1.41	7.73 ± 1.39	7.40 ± 1.12	$7.40^{a} \pm 0.83$
สูตรที่ 4	$6.73^{a} \pm 1.53$	7.67 ± 1.05	8.12 ± 0.99	7.65 ± 0.62	$7.00^{ab} \pm 1.13$
สูตรที่ 5	$6.93^{a} \pm 1.22$	8.07 ± 1.16	8.07 ± 1.10	8.05 ± 1.10	$7.66^{a} \pm 1.05$
สูตรที่ 6	$6.73^{a} \pm 1.28$	7.47 ± 1.25	7.87 ± 1.25	7.86 ± 1.25	$7.86^{a} \pm 0.99$
สูตรที่ 7	$6.70^{a} \pm 1.53$	6.93 ± 1.49	6.80 ± 0.94	6.62 ± 0.94	$6.20^{b} \pm 1.32$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติม ไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที

4.4.6.6 กลิ่นรส

ผลการประเมินทางด้านกลิ่นรสของกุนเชียงทั้ง 7 สูตร พบว่า ในวันที่ 0 กุนเชียงสูตรที่ 6 ได้คะแนนทางด้านกลิ่นรสสูงสุด 7.26 กุนเชียงสูตรที่ 7 ได้รับคะแนนทางด้านกลิ่นรสน้อยที่สุด 6.33 เมื่อเก็บรักษากุนเชียงเป็นเวลา 28 วัน พบว่ากุนเชียงทุกสูตรมีคะแนนทางด้านกลิ่นรสลดลง ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในกุนเชียง กุนเชียงสูตรที่ 5 จะได้คะแนนทางด้านกลิ่นรสสูงสุด คือ 7.73 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกุนเชียงสูตรมาตรฐาน สำหรับกุนเชียงสูตรที่ 7 จะได้คะแนนทางด้านกลิ่นรสต่ำสุด คือ 5.53 แสดงดังตารางที่ 4.22

ตารางที่ 4.22 แสดงคะแนนความชอบด้านกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน

สูตรกุนเชียง	อายุการเก็บรักษา (วัน)				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
สูตรที่ 1	$7.20^{a} \pm 1.32$	8.20 ± 1.08	7.80 ± 1.01	7.27 ± 1.03	$7.33^{a} \pm 1.18$
สูตรที่ 2	$6.86^{a} \pm 1.64$	6.53 ± 1.36	6.47 ± 1.68	6.47 ± 1.68	$6.40^{bc} \pm 0.91$
สูตรที่ 3	$6.93^{d} \pm 1.62$	7.53 ± 1.64	7.40 ± 2.16	6.80 ± 1.57	$6.20^{c} \pm 1.37$
สูตรที่ 4	$6.53^{a} \pm 2.20$	7.53 ± 1.25	7.47 ± 1.77	7.33 ± 1.63	$7.06^{ab} \pm 1.28$
สูตรที่ 5	$7.00^{a} \pm 1.46$	8.20 ± 1.08	8.00 ± 1.41	8.01 ± 1.41	$7.73^{a} \pm 0.80$
สูตรที่ 6	$7.26^{a} \pm 1.75$	7.81 ± 1.21	7.65 ± 1.45	7.67 ± 1.45	$7.46^{a} \pm 0.99$
สูตรที่ 7	$6.33^{a} \pm 1.88$	7.00 ± 1.46	6.21 ± 1.70	6.02 ± 1.70	$5.53^{d} \pm 1.06$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติม ไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที

4.4.6.7 การยอมรับโดยรวม

ผลการประเมินทางด้านการยอมรับโดยรวม พบว่าวันที่ 0 กุนเชียงสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรมาตรฐานได้รับคะแนนการยอมรับโดยรวมสูงสุด เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน พบว่ากุนเชียงสูตรที่ 1 5 และ 6 ได้รับคะแนนการยอมรับโดยรวมสูงสุด และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) สำหรับกุนเชียงสูตรที่ 7 มีคะแนนการยอมรับโดยรวมต่ำสุดคือ 5.53 แสดงดังตารางที่ 4.23

ตารางที่ 4.23 แสดงคะแนนความชอบด้านการยอมรับโดยรวมของผลิตภัณฑ์กุนเชียงทั้ง 7 สูตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน

สูตรกุนเชียง	อายุการเก็บรักษา (วัน)				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
สูตรที่ 1	$7.46^{a} \pm 1.06$	8.13 ± 0.92	7.81 ± 0.86	7.07 ± 1.00	$7.40^{ab} \pm 0.74$
สูตรที่ 2	$7.13^{a} \pm 1.30$	7.00 ± 1.20	7.20 ± 1.08	7.13 ± 1.06	$7.06^{bc} \pm 0.80$
สูตรที่ 3	$7.33^{a} \pm 0.82$	7.53 ± 1.36	7.60 ± 1.55	6.85 ± 1.25	$6.46^{c} \pm 0.64$
สูตรที่ 4	$6.56^{a} \pm 1.86$	7.40 ± 0.83	7.97 ± 1.17	7.43 ± 0.78	$6.93^{bc} \pm 0.88$
สูตรที่ 5	$7.40^{a} \pm 1.12$	8.67 ± 0.98	8.47 ± 1.36	8.20 ± 1.15	$7.53^{ab} \pm 0.64$
สูตรที่ 6	$7.33^{a} \pm 1.63$	8.27 ± 0.88	7.13 ± 1.46	7.92 ± 1.16	$7.80^{a} \pm 1.01$
สูตรที่ 7	$6.60^{a} \pm 1.24$	6.72 ± 1.28	6.47 ± 1.30	6.04 ± 1.30	$5.33^{d} \pm 0.98$

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง : ตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) : กุนเชียงที่มีปริมาณไนไตรท์ 125 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 2 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 3 : กุนเชียงที่มีโซเดียมเบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 4 : กุนเชียงที่มีบีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก ไม่เติมไนไตรท์

สูตรที่ 5 : กุนเชียงที่มีลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก และไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม

สูตรที่ 6 : กุนเชียงที่มีปริมาณลูกเดือยที่ได้จากการหมักร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก โซเดียม-เบนโซเอทร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ไนไตรท์ 20 พีพีเอ็ม และ บีเอชทีร้อยละ 0.008 โดยน้ำหนัก

สูตรที่ 7 (สูตรควบคุม) : กุนเชียงที่ไม่เติม ไนไตรท์ ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก โซเดียมเบนโซเอท และ บีเอชที

บทที่ 5
สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการเลี้ยงเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็ง ออกแบบการทดลองโดยใช้ Central composite design (CCD) พบว่าปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสี คือ ความชื้นอยู่ในช่วง ร้อยละ 58-63 พีเอช 5.95-6.25 และอุณหภูมิ 28-31 องศาเซลเซียส เมื่อทำการเลี้ยงที่สภาวะดังกล่าว เชื้อสามารถผลิตสีได้ 105 OD ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในวันที่ 10 ของการเจริญ จะได้ลูกเดือยสีแดงที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 นำไปอบให้แห้งและบดให้เป็นผง จากนั้นนำผงลูกเดือยที่ได้จากการหมักไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเปรียบเทียบกับลูกเดือยปกติพบว่าลูกเดือยที่ได้จากการหมัก มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 23.99 ไขมันร้อยละ 11.84 เถ้าร้อยละ 3.89 เส้นใยร้อยละ 10.78 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 53.08 วิตามินบี 1 1.53 มิลลิกรัมต่อ100 กรัม ตัวอย่าง วิตามินบี 2 0.57 มิลลิกรัมต่อ100กรัม ตัวอย่าง แคลเซียม 180.74 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตัวอย่าง ฟอสฟอรัส 7,232 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และไม่พบ อะฟลาทอกซินชนิด บี 1 บี 2 จี 1 และ จี 2

จากนั้นนำผงลูกเดือยที่ได้จากการหมักมาทดแทนไนไตรท์บางส่วนในผลิตภัณฑ์กุนเชียง ทำการศึกษาทั้งหมด 7 สูตร พบว่า กุนเชียงสูตรที่ 2 5 และ 6 ที่มีการใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมักมีปริมาณโปรตีนและเถ้าสูงกว่ากุนเชียงสูตรอื่น แต่ปริมาณไขมัน ความชื้น a_w น้อยกว่ากุนเชียงสูตรที่ไม่มีการเติมลูกเดือยที่ได้จากการหมัก สำหรับค่าสี L* ในกุนเชียงสูตรที่ 2 ค่า L*ต่ำกว่าสูตรอื่น ขณะที่ค่า a* วัดได้สูงสุดในสูตรที่ 5 และ6 สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า คะแนนความชอบทางด้านสีสูตรที่ 6 ได้รับคะแนนสูงสุด สำหรับคะแนนทางด้านเนื้อสัมผัส ความแน่นเนื้อ ความชุ่มฉ่ำ ความสม่ำเสมอของสี กลิ่นรส และการยอมรับโดยรวม ไม่แตกต่างกันในกุนเชียงทั้ง 7 สูตร

เมื่อทำการเก็บรักษากุนเชียงทั้ง 7 สูตร ในถุงโพลิโพไพลิน ปิดปากถุงให้สนิท เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28 วัน ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในด้าน กายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และการยอมรับของผู้บริโภค พบว่า ในระหว่างการเก็บรักษา ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น a_w ค่า L* a* b* รวมถึงคะแนนในการทดสอบทางประสาทสัมผัสมีแนวโน้มลดลง สำหรับปริมาณ TBARS และจำนวนจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยกุนเชียงสูตรที่ 5 และ6 ซึ่งมีการใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมักเป็นส่วนประกอบมีการเพิ่มขึ้นของค่า TBARS น้อยกว่าสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรมาตรฐาน และมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์ รา มีจำนวนเพิ่มขึ้นน้อยกว่าสูตรที่ 1

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าลูกเดือยที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *M. purpureus* TISTR 3090 สามารถทดแทนสารไนไตรท์บางส่วนในผลิตภัณฑ์กุนเชียงได้ เนื่องจากลูกเดือยที่ได้จากการหมักสามารถลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ และกุนเชียงที่ใช้ลูกเดือยที่ได้จากการหมัก สูตรที่ 5 และ 6 สามารถเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้มากกว่า 21 วัน โดยจำนวนจุลินทรีย์ไม่เกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนรวมทั้ง ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคสูงสุด และมีการใช้ไนไตรท์ต่ำสุดทำให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัยในการบริโภคมากขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. ควรเพิ่มความเข้มข้นของลูกเดือยที่ได้จากการหมัก รวมทั้งความเข้มข้นของไนไตรท์โซเดียมเบนโซเอท และบีเอชที เพื่อให้เห็นผลการทดลองชัดเจน
2. ควรศึกษาอายุการเก็บรักษากุนเชียงในสภาวะสุญญากาศ เปรียบเทียบกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ ควรเก็บไว้เป็นเวลา 6-8 สัปดาห์ เพื่อจะได้เห็นการเปลี่ยนแปลงของกุนเชียงที่เกิดขึ้นชัดเจน

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร.“**เดือย**”. [online]. Available: http://it.doa.go.th/vichakan/news.php?newsid=19 . 2012.

กระทรวงอุตสาหกรรม. 2546. “ **มาตฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกุนเชียงหมู** ”. เอกสาร มผช. ที่103/2546. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ. 5 น.

กิตติศาสตร์ กระบวน. นิธิพงศ์ จิตรีโภชน์. ธีรพร กงบังเกิด กมลวรรณ โรจน์สุนทรกิตติ และ วรสิทธิ์ โทจำปา. 2009. “ ผลของสารสี *Monascus* จากปลายข้าวในการยับยั้งการหืนในผลิตภัณฑ์กุนเชียงหมู ” . **การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47.** กรุงเทพฯ.

กังสดาลย์ บุญปราบ. พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์. และ นภา โลห์ทอง. 2539 “การคัดเลือก Glucose Depression Mutants เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตข้าวแดง และกลไกควบคุมการสร้างสารสีของเชื้อกลายพันธุ์”. **การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 34.** กรุงเทพฯ.

กัลยาณี เต็งพงศธร. “**เทคนิคการนำเสนอข้อมูลแบบพื้นผิวตอบสนองเมื่อใช้แผนการทดลองแบบ Central Composite Design, CCD**”. [online]. Available: http://www.kmitl.ac.th/~kskallay/pdf /rsm-ccd(R).pdf. 2012.

เกษตรพอเพียงดอตคอม. “**ประโยชน์ของลูกเดือย**”. [online]. vailable:http://www.kasetporpeang.com /forums/ index.php?topic=2319.0. 2012.

มญรกาญจน์ เดชกุญชร และมาศอุบล ทองงาม. 2550. “สมบัติด้านเคมี และเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือย”. **การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45.** กรุงเทพฯ.

บุษบา ยงสมิทธิ์. 2518. “ปัจจัยต่างๆที่มีอิทธิพลต่อการผลิตข้าวแดงโดยเชื้อราโมแนสคัส” . **บทปฏิบัติการในวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2 น.

บุษบา ยงสมิทธ์ วิเชียร ยงมานิตชัย สนทนา แสงจันทร์ และชุลี ชัยศรีสุข. 2531. การผลิตสารสีผสมอาหารจากมันสำปะหลังเพื่ออุตสาหกรรรมการหมัก. **รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์เสนอต่อสำนักงานคณะกรรรมการการวิจัยแห่งชาติ.** กรุงเทพฯ. 225 น.

บุษบา ยงสมิทธ์. 2542. “ **จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี** ”. ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พลายแก้ว ไชยเบญจรงค์ และบุษบา ยงสมิทธ์. 2543. การศึกษาเบื้องต้นการผลิตโคจิสีแดงของโมแนสคัส เตรียมจากวัตถุดิบชนิดต่างๆ. **รายงานการประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 29.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 277-282 น.

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิสิษฐ์. 2536. "**เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์** ". พิมพ์ครั้งที่ 2. เคยูเพลส. กรุงเทพฯ. 135 น.

รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์. 2531. "การคัดเลือกสายพันธุ์ *Monascus purpureus* ที่เหมาะสมในการผลิตสี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท". มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่

วัฒนี บุญวิทยา. 2542. "**เทคโนโลยีเนื้อและผลิตภัณฑ์**". ปทุมธานี : คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันราชภัฏเพชรบุรีวิทยาลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์. 145 น.

สุภาภรณ์ ปิติพร. "**บันทึกของแผ่นดิน หญ้า ยา สมุนไพรใกล้ตัว**". [online]. Available: http://www.plengpakjai.net/index.php?topic=4558.0. Springer Images. 2012.

อรัญ หันพงศ์กิตติกุล. เมธินี เหว่ซิ่งเจริญ และเรณู ปิ่นทอง. 2531. "ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตข้าวแดงโดย *Monascus purpureus* " . **วารสารเกษตร.** 4(2) : 125-128.

อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547. **" ข้าววิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี".** กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 53-54.

อนามัย. กระทรวงสาธารณะสุข. 2530. **"ตารางแสดงคุณค่าทางอาหารไทยในส่วนที่กินได้100กรัม".** พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ.

Alexopoulous, C. J. and Mims, C. W. 1979. A new species of Monascus from pine tissues in Florida. Introductory Mycology. **Mycologia.** New York. 79(3): 479-484.

AOAC. *1995.* ***Official Methods of Analysis of the AOAC International, (16th ed).*** Association of Official Analytical Chemists. Arlington. VA. USA.

Baipong, S., and Pinthong, R. 2003. "Production of red pigment and citrinin by *Monascus Purpureus.*" (Thai). **J Agri Sci.** (4–6): 202.

Babitha, S., Soccol, C.R. and Pandey, A. 2007. "Solid-State Fermentation for the Production of *Monascus* Pigments from Jackfruit Seed". **J Biotechnol**. 98(8), 1554-1560.

Bandalin., F. J. 1958. **J Am Pharm Assoc Sci.** Ed. 47: 691-694.

Blanc, P., Loret, M., and Goma, G. 1995. **"**Production of citrinin by various species of *Monascus***". Biotech Letters.** 17(3): 291-294.

Cannon, P. F., Abdullah, S. K. and Abbas, B. A. 1995. "Two new species of *Monascus* from Irag with a key to known species of the Genus". **Mycol Res.** 99(6): 659-662.

Carels, M. and Shepherd, D. 1975. "Sexual reproduction cycle of *Monascus* sp. in submerged shaker culture. **J Bacteriol.** 122 (1): 288 - 294.

Carvalho, J. C. 2003. Desenvolvimento de bioprocesso para a produção de pigmentos a partir de *Monascus* por fermentação em substrato sólido. tese (Doutorado), UFPR, Brasil.

Chen, M. H. and Jonhs, J. R. 1993. "Effect of pH and nitrogen source on pigment production by *Monascus purpureus*". **J App Microbiol Biotechnol.** 40(1): 132-138.

Chen, M. H., and Jonhs, J. R. 1994. "Effect of carbon source on ethanol and pigment production by *Monascus purpureus*". **Enzyme J microb technol.** 16(7): 584-590.

Chen, F., and Hu, X. 2005. "Study on red fermented rice with high concentration of monacolin K and low concentration of citrinin". **Int Food Micro.** 103: 331–337

Chung, H. Y. 1997. " Studies on processing low-fat Kung - wan with edible gums". National Taiwan University. Master thesis. Taipei. Taiwan.

Dainippon. Ink and Chemicals. 1982. Manufacture of coenzyme Q_{10} with *Monascus anka.* Japanese Patent. 8082959 (800620).

Dufosse, L., Galaup, P., Yaron, A., Arad, S. M., Blanc, P., Murthy, K. N. C., and Ravishankar, G. A. 2005. "Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality". **Food Sci Technol.** 16: 389-406.

Fabre, C. E., Goma, G. and Blanc, P. J. 1993. "Production and food applications of the red pigments of *Monascus ruber*". **J Food Sci.** 58: 1099-1110.

Fink-Gremmels, J. and Leistner, L. 1989. Miscellaneous colorants. (Eds.). **Natural Food Colorants Blackie**. Glasgow.

Galaup, P., Dufosse, P., L., Yaron, A., Arad, S.M., Blance, P., Murthy, C.N.K. and Ravishandar, G. A. 2005. "Microorganisms and microalgae as sources of pigment for food use : scientific oddity or and industrial reality". **Food Sci Technol,** 16: 389-406.

Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Panagiota, K., Blekas, G., Spyridon, A. G. 2007. " Effect of rosemary extract, chitosan and α-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausage stored at 45 °C". **Meat Sci**. 76: 172-181.

Gill, A. O., Delaquis, P., Russo, P., and Holley, R. A. 2003. "Evaluation of antilisterial action of Cilantro oil on vacuum packed ham". **Int J Food Microbiol.** 73: 83-92.

Hawksworth, D. L. and Pitt, J. I. 1983. "A new taxonomy for *Monascus* species based on

culture and microscopical character". **Aust J Biotenol.** 31: 51-61.

Hiroi, T., Shima, T., Susuki, T., Tsukioka, M. and Ogasawara, N. 1979. "Hyperpigment productive mutant of *Monascus anka* for solid culture". **Agri Biot Chem.** 43: 19-75

Honikel, K.O. 2008. "The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat Products". **Meat Science**. 78: 68-76.

Juzlova, P., Rezenka, T., Martinkova, M. and Kren, V. 1996. "Long Chain fatty acids from *Monascus purpureus*". **Phytochemistry.** 43(1): 151-153.

Johns, M.R and Stuart, D.M. 1991. Production of Pigment by *Monascus purpureus* in Solid culture. **J Ind Microbiol**. 8, 23-28.

Kolotila, M. P. and Volz, P. A. 1980. "Nitrogen sources and cleistothecial production of *Monascus rubber*". Van Tieghem. **Phytologia**. 45: 438-441.

Kranz, C., Panitz, C. and Kunz, B. 1992. "Biotransformation of free fatty acids in mixtures to methyl ketones by *Monascus purpureus*". **J Appl Microbiol Biotechnol**. 36: 436-439.

Lee, Y-K., Ng ,A-L. and Lim, B-L.1992. "The Kinetics of growth and pigment production of *Monascus* cultures". **Microbial Utilization of Renewable Resources**. 8, 334-338.

Lin, K. W. and Chao, J. Y. 2001. "Quality characteristics of reduced-fat Chinese-style sausage as related to chitosan's molecular weight". **Meat Sci**. 59:343-351.

Lizuka, H, and Lin, C. F. 1981. "On the genus *Monascus* of Asia and its specific characteristics". pp. 555-561. Young, M. Moo., Robinson, C.W. and Vezina, C. (eds.). **Adv Biotechnol.** Pergamon Press. Toronto.

Lin, W.Y., Ting, Y.C., and Pan, T.M. 2007. "Proteomic response to intracellular proteins of *Monascus pilosus* grown under phosphate-limited complex medium with different growth rates and pigment production". **J Agric Food Chem.** 55: 467–474

Lin, Y.,Wang, T., Lee, M. and Su, N., 2008. "Biological active compounds and nutraceuticals in the *Monascus* fermented rice : a review". **J Appl Microbiol Biotechnol.** 77 (5): 965-973.

Lui, D. Cheng., Wu, Shang-Wei and Tan, Fa-jui. 2010. "Effects of addition of anka rice on the qualities of low- nitrite Chinese sausage". **Food Chemistry**, 118: 245-250

Lotong, N. and Suwanarit, P., 1990. "Fermentation of angkak in plastic bags and regulation of pigmentation by initial moisture content". **J Applied Micro.** 68 (6): 565-570.

Lumyong, S. and Tomita, F. 1992. "Some optimization conditions and strain improvement for L-malic acid production by an albino mutant, *Monascus araneosus* ST. 92". **Microbiol.** 8: 272-278.

Lumyong, S., Takao, S. and Tomita, F. 1990. "Organic acid production by *Monascus araneosus* AHU 9087". **Microbiol Res.** 7: 166-174.

Lumyong, S. and Tomita, F. 1993. "L-malic acid production by an albino strain of *Monascus Araneosus*". **J Microbiol Biotechnol.** 9 (3): 383-384.

Martinkova, L., Juzlova, P. and Vesely, K. 1995. "Biological activity of polyketide pigments produced by the fungus *Monascus*". **J Appl Bacteriol.** 79 (6): 609–619.

Nishikawa, J., Watanabe, Y., Kashimura, J. K., Aso, J. and Lizuka, H. 1988. "Characterization of extracellular proteinases of the genus *Monascus* by their pH-activity profiles". **J Gen Appl Microbiol.** 34: 467-473.

Nishikawa, J., and Lizuka, H. 1998. " Numerical taxonomy of *Monascus* species based on the electrophoretic analysis of intracellular enzymes". **J Basic Microbiol.** 33: 331-342.

Osterlie, M. and Lerfall, J. 2005. " Lycopene from tomato products added minced meat: Effect on Storage quality and colour". **Food Res Int.** 38: 925-929.

Palo, M. A., Vidal – Adeva, L. and Maceda, L. 1960. "Study on ang – kak and its production. Philipp". **J Sci Soc.** 69: 1-22.

Patcharee, P., Pintong, R., Phianmongkhol, A. and Tharatha, S. 2008. "Mevinolin , citrinin and pigments of adlay angkak fermented by *Monascus* sp". **Food microbiol**. 125: 20-23

Rick, S., Zabala, C., Diaz, I. and kecton, J. T. 2007. Fermented meat, poultry, and fish products in Doyle, M. P. and R. Beuchat. (Eds.). **Food microbiol.** (3rd ed., pp. 795-815). Washington DC: ASM Press.

Sakura, Y., Lee, T.H. and Shiota, H. 1997. "On the convenient method of glucosamine estimation in koji". **Agri Biol Chem.** 4 : 619-624.

Schindler, j., Bahn, M., Viehweg, H. and Adams, W. 1992. German Federal Republic Patent Application.

Silveira, S.T., Daroit, D.J. and Brandelli, A. 2008. " Pigment production by *Monascus purpureus* in grape waste using factorial design" . **Food Sci Technol.** 41(1): 170-174.

Su, N.W., Lin, Y.L., Lee, M.H. and Ho, C.Y. 2005. "Ankaflavin from *Monascus* fermented red rice exhibits selective cytotoxic effect and induces cell death on Hep G2 cell". **J Agric Food Chem**. 53: 1949-1954.

Su, Y.C., Chen, W.L., Fang, H.Y., Wong, H.C. and Wang, W.H. 1970. "Mycological study of *Monascus anka* (in Chinese)". **J Chin Agric Chem. Soc.** 8: 46-54.

Su ,Y.C. and Wang, W.H. 1977. "Chinese red rice-anka". Symposium on Indigenous Fermented Foods. Bangkok. Thailand.

Su, Y. C. and Huang, J. H. 1980. "Fermentative production of anka – pigments". **Proc Natl Sci Counc. ROC.** 4 (2): 201-215.

Tsai, M. S., Hscu, T. H. and Shen, M. S. 1978. "Purification and characterization of an acid protease from *Monascus kaoliang*". **Int J Peptide Res.** 12 (5): 293-302.

Tseng, Y.Y., Chen, M.T. and Lin, C.F. 2000. "Growth, pigment production and protease activity of *Monascus purpureus* as affected by salt, sodium nitrite, polyphosphate and various sugars". **J Appl Microbiol.** 88: 31-37.

Tseng, Y., Yang, J., Chang, H., Lee, Y. and Mau, J. 2006. "Antioxidant properties of methanolic extracts from monascal adlay". **Food Chem.** 97 (3): 375-381.

Von Arx, J. A. 1970. "The genera of fungi sporulating in pure culture". J. Crammer, Verlag.

Wang, S.F., Jing, Y.N. And Lin, C. W. 1995. "Lipid and cholesterol oxidation in Chinese style sausage using vacuum and modified atmosphere packaging". **Meat Sci**. 40. 93-101.

Wild, D., Toth, G. and Humpf, H. U. 2002. "New *Monascus* metabolite isolated from red yeast rice (Ang-kak, Red Koji)". **J Agric Food Chem.** 50: 999-4,002.

Woods, L. F. J., Wood, J. M. and Gibbs, P. A. 1981. "The involvement of nitric oxide in the inhibition of phosphoroclastic system in *Clostridium sporogenes* by sodiumnitrite". **J Gen Appl Microbiol.** 125: 399-406.

Wong, H. C. and Bau, Y.S. 1977. "Pigmentation and antibacterial activity of fast neutron and X-Ray induced strains of *Monascus purpureus* Went". **Plant Physiol.** 60 : 578 – 581.

Wong, H.C. and Koehler, P.E. 1981. "Production and isolation of an antibiotic from *Monascus purpureus* and its relationship to pigment production". **J Food Sci**. 46, 589-592.

Wong-Leung, Y. L., Fong, W. F. And Lam, W. L. 1993. "Production of alpha-galactosidase by *Monascus* grown on soybean and sugarcane waste". **J Microbiol Biotechnol.** 9 (5): 529-533.

Wong, H. C. and Bau, V. S. 1978. "A comparison of conidial and ascospore germination of *Monascus purpureus*".**Trans Br Mycol Soc.**70 (2): 277-282.

Yang, J., Tseng, Y., Chang, H., Lee, Y. and Mau, J. 2005. "Storage stability of monascal adlay". **Food Chem.** 90: 303-309.

Yasuda, M., Ikehara, K., Tawata, S., Kobamoto, N. and Toyama, S. 1995. "Purification and properties of a ribonuclease from a species of the genus *Monascus*". **Biosci Biotech. Biochem.** 59 (2): 327-328.

Yasukawa, K., Takahashi, M., Yamanouchi, S. and Takido, M. 1996. "Inhibitory effect of oral administration of Monascus pigment on tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mouse skin". **J Microbiol.** 53: 247-249.

Yongsmith, B., Tabloka, W., Krairak, S. and Bavavoda, R. 2000. "Cassava fermentation of yellow pigments and amylolytic enzyme by a mutant of *Monascus* spp. in submerged cultivation". **Microbiol Utilization of Renewable Re-sources.** 7: 354-363.

ภาคผนวก ก.

การนับจำนวนสปอร์โดยใช้ Haemacytometer

ตามวิธีของ Towsend และLindrend. 1953 (รัตนาภรณ์. 2531)

1. ทำความสะอาดสไลด์ และCover glass ของ Haemacytometer วาง Cover glass ให้อยู่กึ่งกลางสไลห์ ปิเปตสารแขวนลอยสปอร์แทรกเข้าไปอยู่ระหว่าง Cover glass และสไลด์จนเต็ม

2. นำไปนับจำนวนสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า โดยนับสปอร์ที่อยู่ในแต่ละช่อง จำนวน 5 ช่องใหญ่

1		**2**
	3	
4		**5**

3. การคำนวณจำนวนสปอร์

ความลึกของ Haemacytometer ที่ใช้ = 0.1 มิลลิเมตร

ขนาดพื้นที่ของแต่ละช่อง = 0.0025 ตารางมิลลิเมตร

ดังนั้นปริมาตรของแต่ละช่องเล็ก = 0.00025 ลูกบาศก์เมตร

เพราะฉะนั้น จำนวนสปอร์ต่อมิลลิลิตร = สปอร์เฉลี่ย x 1 x 10^4

ภาคผนวก ข.

การเตรียมสารเคมีและการวิเคราะห์

วิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบ (AOAC. 1995)

1.1 ความชื้น

1. นำ Crucible เข้าตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น

2. ชั่งน้ำหนักของ Crucible โดยละเอียดด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3. ชั่งตัวอย่างประมาณ 3 กรัม และบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน

4. นำตัวอย่างเข้าตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

5. นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น แล้วบันทึกน้ำหนักตัวอย่าง

6. ทำซ้ำตามข้อที่ 4 ถึง 5 จนกระทั่งน้ำหนักที่ได้คงที่ โดยน้ำหนักที่หายไป คือ ค่าของความชื้น

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(a - b)}{a} \times 100$$

a = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

b = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

1. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบหรือ Crucible เข้าตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น

2. ชั่งและบันทึกน้ำหนักของ Crucible โดยละเอียดด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3. ชั่งตัวอย่างใส่ Crucible 3 กรัม และบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน

4. นำตัวอย่างไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนกลายเป็นเถ้าสีขาว

5. นำตัวอย่างที่เผาเสร็จใส่ในโถดูดความชื้น เมื่อตัวอย่างเย็นลงดีแล้ว นำไปชั่งทันทีด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

คำนวณหาร้อยละของเถ้าด้วยสมการ

$$\text{การคำนวณ เถ้า (ร้อยละ)} = \frac{(W_2 - W_1) \times 100}{W_3}$$

W_1 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้อง

W_2 = น้ำหนักถ้วย + น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา

W_3 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา

1.3 การวิเคราะห์ร้อยละของโปรตีน

การเตรียมสารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 95 – 98 (H_2SO_4 conc., AR grade)

2. สารเร่งปฏิกิริยารวม (catalyst mixture) สารผสมระหว่าง คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$) 7 กรัม กับ โปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 100 กรัม ในอัตราส่วน 1 : 9

3. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 45 เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 450 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

4. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 0.2 นอร์มอล เตรียมโดยดูดสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 8.4 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

5. สารละลายกรดบอริค (H_3BO_3) เข้มข้นร้อยละ 4 เตรียมโดยละลายกรดบอริค 4 กรัม ในน้ำกลั่น ต้มจนกระทั่งละลายหมดปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

6. อินดิเคเตอร์รวม (mix indicator) เตรียมโดยละลายเมทิลเรด 0.2 กรัมในแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทิลินบลู 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายเมทิลเรด 2 ส่วน ผสมกับสารละลายเมทิลินบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน

การย่อยตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างอาหารประมาณ 0.5 กรัม ด้วยเครื่องทศนิยม 4 ตำแหน่ง ใส่ลงในหลอดสำหรับย่อย (digestion tube) หรือ ในกรณีที่เป็นตัวอย่างมีความชื้นสูงจะชั่งลงบนกระดาษกรองที่ปราศจากไนโตรเจน พับกระดาษใส่ลงในหลอดย่อยเพื่อทำเป็นแบลงค์

2. เติมสารเร่งปฏิกิริยาประมาณ 3 กรัม หรือ Kjeldahl catalyst tablets 2 เม็ด และเติมกรดซัลฟุริกเข้มข้นลงไป 10 มิลลิลิตร

3. ตั้งหลอดย่อยลงบนเครื่องย่อย ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 420 องศาเซลเซียส ทำการย่อยภายในตู้ดูดควัน เปิดเครื่องดูดไอกรด (scrubber) ทำการย่อยจนตัวอย่างใส(สีเขียว) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเพื่อรอนำไปกลั่น

การกลั่น

1. นำสารละลายตัวอย่าง เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร

2. ต่อหลอดแก้วเข้ากับชุดเครื่องกลั่นที่มีขวดรูปชมพู่บรรจุกรดบอริค 40 มิลลิลิตร (ใส่อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด) โดยให้ปลายของท่อยางที่ต่อลงมามาจากกระบอกแก้วควบแน่นจุ่มอยู่ในกรดบอริค

3. เมื่อกลั่นครบตามเวลาที่กำหนด เครื่องจะหยุดทำงาน นำขวดรูปชมพู่ออกจากเครื่องกลั่น

4. นำขวดรูปชมพู่ที่ดักจับแก๊สแอมโมเนียที่ถูกกลั่นออก นำไปไตเตรตหาปริมาณไนโตรเจนด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก

$$\text{การคำนวณ ร้อยละของไนโตรเจน} = \frac{14.01 \times (V1 - V2) \times N}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)} \times 10}$$

14.01= น้ำหนักมวลโมเลกุลของไนโตรเจน

V1 = ปริมาตรของกรดที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V2 = ปริมาตรของกรดที่ใช้ไตเตรทแบลงค์ (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ไตเตรท (นอร์มัล)

10 = ค่าคงที่ที่แปลงจากหน่วยกรัมเป็น ร้อยละ

1.4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องสกัดไขมัน (soxhlet system)
3. ไส้กรองสาร (thimble)
7. ตู้อบ (oven)
8. โถดูดความชื้น

สารเคมี

1. ปิโตรเลียมอีเทอร์(petroleum ether)

วิธีการ

1. อบถ้วยสกัดไขมัน และตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อบจนแห้งและทิ้งหเย็นใจโถดูดความชื้น

2. ชั่งน้ำหนักถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้วให้ได้น้ำหนักคงที่

3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่กระดาษกรอง ประมาณ 1-2 กรัม ห่อใส่ในไส้กรองสารที่เตรียมไว้นำไปใส่เข้าเครื่องสกัดไขมัน

4. นำถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้วที่ชั่งไว้แล้วเติมสารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร แล้วใส่เข้าเครื่องสกัดไขมัน

5. เปิดเครื่องสกัดไขมัน ปรับอุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ต้มให้เดือด 30 นาที

6. นำถ้วยสกัดไขมันที่ได้ออกจากเครื่องวางทิ้งให้เย็นแล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

7. นำถ้วยสกัดไขมันมาใส่ในโถดูดความชื้นทิ้งให้เย็นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก

1.5 Water activity (thermoconstanter)

1.หมุนปุ่มสีเหลืองของเครื่อง Thermoconstanter

2.นำตลับพลาสติกมาใส่ตัวอย่างให้ได้ปริมาตรประมาณร้อยละ 80-90

3.นำตลับตัวอย่างมาใส่ไว้ใน Measuring chamber และปิดฝาให้เรียบร้อย

4. ตั้งอุณหภูมิให้ได้ตามที่ต้องการ

5.จากนั้นรอจนกระทั่งได้อุณหภูมิตามที่ตั้งไว้ และ ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศที่วัดได้อยู่ในสภาวะที่สมดุลกับตัวอย่างสภาวะนี้เรียกว่า Equilibrium relative humidity (ERH) เมื่อหารด้วย 100 ก็จะได้ค่า a_w (water activity) ตามที่ต้องการ

1.6 การวิเคราะห์ค่า Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)

(Buege และ Aust. 1978)

สารเคมี

1. กรดไทโอบาบิทูริก (TBA)
2. กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.25 นอร์มัล

การเตรียมสารละลาย

กรดไทโอบาบิทูริกความเข้มข้นร้อยละ 0.0375 โดยชั่ง ผง TBA 0.0375 กรัม ในสารละลายที่มีกรดไทโอบาบิทูริก ร้อยละ 15 และ ไฮโดรคลอริก 0.25 นอร์มอล ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

วิธีการ

1.ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม เติมกรดไทโอบาบิทูริก 5 มิลลิลิตร
2. นำไปเข้าเครื่องตีป่น ที่ความเร็วสูงสุด 60 วินาที
3. นำเฉพาะส่วนของเหลวด้านบนมาต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที
4. ทำให้เย็น
5. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3600 xg (7,520 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 20 นาที
6. วัดค่า OD ที่ 532 นาโนเมตร (สารละลายที่ได้ขุ่น ควรทำการทดลองใหม่)
7. ทำแบลงค์ โดยใช้น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง
8. คำนวณปริมาณ TBARS (thiobarbituric reactive substances)ในรูปของมาโลนัลดีไฮด์ โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน รายงานค่า TBARS เป็น มิลลิกรัมของมาโลนัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง กราฟมาตรฐานใช้สารละลาย MDA solution ซึ่งมีความเข้มข้นของสารละลายแตกต่างกัน

การเตรียมสารละลาย MDA solution เพื่อทำ Standard TBARS

1. MDA 0.1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น
2. เจือจาง โดยนำปริมาณสาร MDA ที่เตรียมได้ จากข้อที่ 1 มาปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
3. นำสารละลายที่ได้มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้

ความเข้มข้น(µg/ml)	0	1	2	3	4	5	6
MDA (ml)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
น้ำกลั่น (ml)	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4

4. ผสม 5 มิลลิลิตร ของสารละลายกรดไทโอบาบิทูริก เขย่าให้เข้ากัน และต้มที่ 100 องศาเซลเซียส

5. ทำให้เย็น และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร แนะนำค่าที่ได้สร้างกราฟ เพื่อหาค่าสมการของกราฟ

การคำนวณ (รายงานค่าเป็น มิลลิกรัม ของมาโลนัลดีไฮด์ ต่อ กิโลกรัม ตัวอย่าง)

$$\text{ความเข้มข้น} = \frac{\text{ค่า OD ที่ได้} = \text{X มิลลิกรัม/1000 มิลลิลิตร}}{\text{ค่าความชันที่ได้จากกราฟมาตฐาน}}$$

ในสารละลาย 1,000 มิลลิลิตร มี มาโลนัลดีไฮด์ X มิลลิกรัม (เทียบ 1 กรัม = 1 มิลลิกรัม)
ถ้ามีตัวอย่าง Z กรัม และ กรดไทโอบาบิทูริก มี 5 มิลลิลิตร = Y มิลลิลิตร

$$\text{มีมาโลนัลดีไฮด์} = \frac{\text{X+Y มิลลิกรัม}}{1{,}000}$$

จากตัวอย่างที่นำมา Z กรัม มี มาโลนัลดีไฮด์ อยู่ $\frac{\text{X x Y มิลลิกรัม}}{1{,}000}$

ถ้ามีตัวอย่าง 1000 กรัม จะมี มาโลนัลดีไฮด์ ตัวอย่าง $= \frac{\text{X x Y มิลลิกรัม มาโลนัลดีไฮด์ /กิโลกรัม}}{Z}$

1.7 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม เติมสารละลายเปปโตน ร้อยละ 0.1 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างอาหารมีเจือจาง 10^{-1}

2. เจือจางตัวอย่างอาหารให้ได้ความเข้มข้น 10^{-2} โดยนำตัวอย่างอาหารจากข้อ 1 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด สารละลายเปปโตน ร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างอาหารความเจือจาง 10^{-2}

3. ทำการเจือจางตัวอย่างอาหารตามวิธีในข้อ 2 จนได้ความเจือจางของตัวอย่างอาหารเท่ากับ 10^{-3} 10^{-4} 10^{-5} และ 10^{-6} ตามลำดับ ตัวอย่างอาหารที่ได้จะใช้ในการทดลองต่อไป

4. หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) แล้วแช่ใน Water bath ที่อุณหภูมิ 45 ถึง 60 องศาเซลเซียส

5. เทอาหาร Plate count agar ลงในจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารมา 1.0 มิลลิลิตร แล้วทำการ Pour plate

6. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง

7. นับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่เจริญบนผิวหน้าอาหารและที่เจริญฝังอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 30 ถึง 300 โคโลนี

8. รายงานผลการตรวจนับจุลินทรีย์ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร โดยดูณจำนวนที่นับกับระดับความเจือจาง

9. รายงานผลโดยมีหน่วยเป็น log CFU ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร

1.8 การวิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม เติมสารละลายเปปโตน ร้อยละ 0.1 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างอาหารความเจือจาง10^{-1}

2. เจือจางตัวอย่างอาหารให้ได้ความเจือจาง 10^{-2} โดยนำตัวอย่างอาหารจากข้อ 1 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด สารละลายเปปโตน ร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างอาหารความเข้มข้น 10^{-2}

3. ทำการเจือจางตัวอย่างอาหารตามวิธีในข้อ 2 จนได้ความเข้มข้นของตัวอย่างอาหารเท่ากับ 10^{-3} 10^{-4} 10^{-5} และ 10^{-6} ตามลำดับ ตัวอย่างอาหารที่ได้จะใช้ในการทดลองต่อไป

4. จากนั้นใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารมา 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหาร Potato dextrose agar แล้วทำการ Spread plate

5. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง

6. นับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่เจริญบนผิวหน้าเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนระหว่าง 25 ถึง 250 โคโลนี

7. รายงานผลการตรวจนับจุลินทรีย์ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร โดยดูณจำนวนที่นับกับระดับความเจือจาง

8. รายงานผลโดยมีหน่วยเป็น log CFU ต่อกรัมของตัวอย่างอาหาร

ภาคผนวก ค.

ใบทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

ชื่อผู้ทดสอบชิม.....วันที่.....

ข้อแนะนำ : ท่านจะได้รับตัวอย่างกุนเชียงเพื่อทำการให้คะแนนความชอบ ให้ท่านทำการเขียนรหัสตัวอย่างลงใน

ช่องสี่เหลี่ยม จากนั้นให้คะแนนตามที่ท่านต้องการจะให้ โดย 1 คือ ชอบน้อยที่สุด และ 9 คือชอบมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง

ก. ลักษณะปรากฏ

1. สี	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
2. ลักษณะเนื้อสัมผัส	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....

ข. ลักษณะเนื้อสัมผัส

3. ความแน่นเนื้อ	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
4. ความชุ่มฉ่ำ	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
5. ความสม่ำเสมอ	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....

ค. กลิ่นและรสชาติ

6. กลิ่นรส	.. ..	.....	.....	.....	.....	.....	.....

ง. ลักษณะการยอมรับโดยรวม

7. การยอมรับโดยรวม	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....

ขอขอบคุณพระทุกท่านที่ได้สละเวลาและให้ความร่วมมืออย่างเต็มที่ในการทดสอบครั้งนี้ ข้อมูลที่ได้จากท่านจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์กุนเชียงต่อไป

ภาคผนวก ง.

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ค1. ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ และทางเคมีในกุนเชียง

ค1.1 วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

ANOVA

โปรตีน วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27.534	6	4.589	389.371	.000
Within Groups	.083	7	.012		
Total	27.617	13			

โปรตีน วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
treatment	N	1	2
3	2	32.3450	
7	2	32.3850	
1	2	32.4350	
4	2	32.5350	
2	2		35.2300
6	2		35.2650
5	2		35.2750
Sig.		.142	.701

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

โปรตีน วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35.618	6	5.936	248.157	.000
Within Groups	.167	7	.024		
Total	35.785	13			

โปรตีน วันที่ 28

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
7	2	27.2850				
4	2		29.1750			
3	2			30.2650		
1	2			30.3500		
6	2				31.6750	
5	2				31.7650	
2	2					32.1600
Sig.		1.000	1.000	.600	.579	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ค 1.2 วิเคราะห์ปริมาณไขมัน

ANOVA

ไขมัน วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.265	6	.544	42.136	.000
Within Groups	.090	7	.013		
Total	3.355	13			

ไขมันวันที่ 0

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
5	2	37.5500	
2	2	37.5550	
6	2	37.6000	
1	2		38.3850
3	2		38.5150
4	2		38.5550
7	2		38.6700
Sig.		.684	.050

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

ไขมัน วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55.565	6	9.261	15.374	.001
Within Groups	4.217	7	.602		
Total	59.781	13			

ไขมัน วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
7	2	24.1450			
4	2		26.9800		
2	2		27.6800	27.6800	
5	2			29.1100	29.1100
6	2				29.7000
3	2				29.7900
1	2				30.1950
Sig.		1.000	.397	.108	.227

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ค 1.3 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า

ANOVA

เถ้า วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.189	6	.198	37.806	.000
Within Groups	.037	7	.005		
Total	1.226	13			

เถ้าวันที่ 0

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7	2	4.4350		
4	2		4.6100	
1	2		4.6300	
3	2		4.6700	
6	2			5.1300
5	2			5.1700
2	2			5.1750
Sig.		1.000	.451	.568

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ค 1.4 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ANOVA

ความชื้น วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.291	6	1.882	69.333	.000
Within Groups	.190	7	.027		
Total	11.481	13			

ความชื้น วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
5	2	13.6000			
6	2	13.7250	13.7250		
2	2		14.0700		
4	2			15.0350	
1	2			15.2950	
3	2				15.8000
7	2				15.9050
Sig.		.473	.075	.159	.544

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

ความชื้น วันที่ 7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.986	6	1.831	98.367	.000
Within Groups	.130	7	.019		
Total	11.117	13			

ความชื้น วันที่ 7

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
6	2	13.5650				
5	2	13.7750	13.7750			
2	2		14.0650			
4	2			14.4700		
1	2				14.9250	
3	2					15.8850
7	2					15.9050
Sig.		.168	.071	1.000	1.000	.888

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

ความชื้น วันที่ 14

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.206	6	2.034	113.284	.000
Within Groups	.126	7	.018		
Total	12.331	13			

ความชื้น วันที่ 14

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
5	2	13.1050			
6	2	13.2850			
2	2		13.9150		
4	2		14.1900		
1	2			14.6150	
3	2				15.5250
7	2				15.6750
Sig.		.221	.079	1.000	.300

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

ความชื้น วันที่ 21

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.662	6	2.277	219.843	.000
Within Groups	.073	7	.010		
Total	13.734	13			

ความชื้น วันที่ 21

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
5	2	12.9250			
2	2	12.9950			
6	2	13.0250			
4	2		13.8700		
1	2			14.3850	
3	2				15.2450
7	2				15.4150
Sig.		.375	1.000	1.000	.139

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

ความชื้น วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18.229	6	3.038	297.026	.000
Within Groups	.072	7	.010		
Total	18.300	13			

ความชื้น วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05					
treatment	N	1	2	3	4	5	6
5	2	12.1250					
2	2		12.5200				
6	2			12.8950			
4	2				13.5200		
1	2					14.2650	
7	2						15.1200
3	2						15.1950
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.482

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ค 1.4 a_w (Water activity)

ANOVA

a_w วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.004	6	.001	4.976	.006
Within Groups	.002	14	.000		
Total	.006	20			

a_w วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
treatment	N	1	2	3
6	3	.64433		
7	3	.65600	.65600	
5	3		.66667	.66667
2	3		.67767	.67767
3	3			.67967
1	3			.68167
4	3			.68733
Sig.		.257	.055	.077

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

a_w วันที่ 7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.003	6	.000	2.372	.086
Within Groups	.003	14	.000		
Total	.006	20			

a_w วันที่ 7

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
7	3	.63533	
6	3	.64800	.64800
3	3	.65200	.65200
1	3	.65467	.65467
5	3	.66167	.66167
4	3		.66433
2	3		.67467
Sig.		.058	.058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

a_w วันที่ 14

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.004	6	.001	4.420	.010
Within Groups	.002	14	.000		
Total	.006	20			

a_w วันที่ 14

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
treatment	N	1	2	3
7	3	.61033		
4	3	.61867	.61867	
2	3		.63400	.63400
5	3		.63733	.63733
3	3			.64367
6	3			.64667
1	3			.65200
Sig.		.428	.104	.131

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

a_w วันที่ 21

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.004	6	.001	6.743	.002
Within Groups	.001	14	.000		
Total	.006	20			

a_w วันที่ 21

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
treatment	N	1	2	3
7	3	.59033		
4	3	.60267	.60267	
2	3	.60800	.60800	
5	3		.61000	
6	3		.61233	
3	3		.62033	
1	3			.63967
Sig.		.063	.075	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

a_w วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.010	6	.002	16.227	.000
Within Groups	.001	14	.000		
Total	.011	20			

a_w วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
treatment	N	1	2
7	3	.54133	
4	3	.55833	
2	3		.58833
5	3		.59400
3	3		.59433
6	3		.59700
1	3		.60233
Sig.		.054	.138

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค 1.5 ค่า L*

ANOVA

L· วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20.376	6	3.396	24.089	.000
Within Groups	1.974	14	.141		
Total	22.350	20			

L* วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
2	3	45.7033			
3	3	45.8000			
7	3		46.8967		
4	3		47.2267		
6	3		47.3067	47.3067	
5	3			47.9400	
1	3				48.6333
Sig.		.757	.225	.058	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

L* วันที่ 7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	68.698	6	11.450	27.951	.000
Within Groups	5.735	14	.410		
Total	74.433	20			

L* วันที่ 7

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
2	3	43.6033			
4	3	43.7433	43.7433		
3	3	43.7667	43.7667		
5	3		44.8433		
1	3			46.7967	
6	3			46.8833	
7	3				48.5333
Sig.		.771	.064	.871	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

L· วันที่ 14

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	115.176	6	19.196	46.804	.000
Within Groups	5.742	14	.410		
Total	120.918	20			

L* วันที่ 14

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
treatment	N	1	2	3	4	5
2	3	40.5200				
4	3		44.2100			
5	3		44.3033			
6	3		45.1867	45.1867		
1	3			45.6933		
3	3				46.8567	
7	3					48.6433
Sig.		1.000	.097	.349	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

L· วันที่ 21

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	184.435	6	30.739	215.838	.000
Within Groups	1.994	14	.142		
Total	186.429	20			

L* วันที่ 21

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
treatment	N	1	2	3	4	5
4	3	40.7933				
3	3	41.2283	41.2283			
2	3		41.7433			
1	3			43.5167		
5	3			43.8500		
6	3				46.0667	
7	3					49.8333
Sig.		.180	.117	.298	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

L· วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	364.903	6	60.817	635.750	.000
Within Groups	1.339	14	.096		
Total	366.242	20			

L* วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
4	3	39.5400			
2	3	39.7533			
3	3	40.0867	40.0867		
1	3	40.1133	40.1133		
5	3		40.4200		
6	3			42.1333	
7	3				52.0400
Sig.		.054	.230	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค 1.6 ค่า a*

ANOVA

a* วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47.917	6	7.986	2070.487	.000
Within Groups	.054	14	.004		
Total	47.971	20			

a* วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
treatment	N	1	2	3	4	5
7	3	7.3300				
4	3	7.3600				
3	3		8.2700			
1	3			8.5300		
6	3				10.6467	
2	3				10.7233	
5	3					11.0433
Sig.		.564	1.000	1.000	.153	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

a. วันที่ 7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	43.932	6	7.322	3137.999	.000
Within Groups	.033	14	.002		
Total	43.965	20			

a* วันที่ 7

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05					
treatment	N	1	2	3	4	5	6
3	3	8.3733					
4	3	8.3933					
7	3		8.4867				
1	3			9.3667			
2	3				11.0367		
5	3					11.3867	
6	3						11.9667
Sig.		.620	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

a * วันที่ 14

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	64.749	6	10.791	5294.889	.000
Within Groups	.029	14	.002		
Total	64.777	20			

a* วันที่ 14

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05					
treatment	N	1	2	3	4	5	6
7	3	7.6533					
3	3		9.1800				
4	3			9.6467			
1	3				11.7733		
2	3					12.2433	
5	3						12.3333
6	3						12.3400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.859

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

a * วันที่ 21

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	60.181	6	10.030	3774.771	.000
Within Groups	.037	14	.003		
Total	60.218	20			

a* วันที่ 21

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
treatment	N	1	2	3	4	5
7	3	7.5200				
3	3		8.7633			
4	3			8.9267		
1	3				11.3967	
5	3					11.7833
6	3					11.8267
2	3					11.8333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.278

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

a* วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54.773	6	9.129	3023.759	.000
Within Groups	.042	14	.003		
Total	54.815	20			

a* วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05					
treatment	N	1	2	3	4	5	6
7	3	7.2767					
3	3		8.4400				
4	3			8.6800			
1	3				10.8867		
2	3					11.1567	
5	3						11.4867
6	3						11.5400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.254

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค 1.7 ค่า b*

ANOVA

b* วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33.414	6	5.569	566.884	.000
Within Groups	.138	14	.010		
Total	33.551	20			

b* วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05					
treatment	N	1	2	3	4	5	6
7	3	9.2000					
3	3		10.2867				
2	3			10.9033			
1	3				11.4600		
5	3					12.5633	
6	3					12.6033	
4	3						12.8167
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.629	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

b* วันที่ 7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20.460	6	3.410	370.844	.000
Within Groups	.129	14	.009		
Total	20.589	20			

b* วันที่ 7

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
treatment	N	1	2	3	4	5
7	3	9.3333				
3	3		10.4167			
2	3			10.9367		
1	3				11.3400	
5	3					12.1100
4	3					12.1433
6	3					12.1567
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.581

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

b* วันที่ 14

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26.350	6	4.392	73.738	.000
Within Groups	.834	14	.060		
Total	27.183	20			

b* วันที่ 14

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
7	3	8.7767			
2	3		10.1267		
3	3		10.2267		
1	3		10.4900		
4	3			11.3867	
6	3				12.1167
5	3				12.1233
Sig.		1.000	.104	1.000	.974

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

b* วันที่ 21

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18.785	6	3.131	74.908	.000
Within Groups	.585	14	.042		
Total	19.370	20			

b* วันที่ 21

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
7	3	8.8400			
2	3		9.5167		
3	3			10.4867	
4	3			10.6700	
5	3				11.2767
1	3				11.3733
6	3				11.5733
Sig.		1.000	1.000	.291	.113

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

b* วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35.110	6	5.852	137.531	.000
Within Groups	.596	14	.043		
Total	35.705	20			

b* วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
treatment	N	1	2	3	4	5
3	3	7.1733				
7	3		8.5833			
2	3			9.1233		
5	3				10.2733	
6	3				10.5400	
1	3				10.5700	
4	3					11.1100
Sig.		1.000	1.000	1.000	.116	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค1.8 TBARS

ANOVA

TBARS วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.907	6	.651	589.453	.000
Within Groups	.015	14	.001		
Total	3.923	20			

TBARS วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05					
treatment	N	1	2	3	4	5	6
1	3	3.5067					
6	3		3.6967				
5	3			3.8167			
4	3				3.9300		
2	3					4.2567	
3	3					4.2700	
7	3						4.9000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.631	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

TBARS วันที่ 7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.139	6	.356	231.035	.000
Within Groups	.022	14	.002		
Total	2.160	20			

TBARS วันที่ 7

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
5	3	4.3333				
3	3	4.3633				
1	3		4.4333			
6	3			4.6400		
2	3				4.8567	
4	3				4.8967	
7	3					5.2733
Sig.		.365	1.000	1.000	.233	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

TBARS วันที่ 14

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.639	6	.273	264.289	.000
Within Groups	.014	14	.001		
Total	1.653	20			

TBARS วันที่ 14

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
5	3	4.7600				
6	3	4.8067	4.8067			
4	3		4.8567			
1	3		4.8600			
2	3			5.0433		
3	3				5.2200	
7	3					5.6033
Sig.		.097	.073	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

TBARS วันที่ 21

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.249	6	.541	256.676	.000
Within Groups	.030	14	.002		
Total	3.278	20			

TBARS วันที่ 21

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
treatment	N	1	2	3	4	5
6	3	4.8833				
5	3	4.9300				
1	3		5.0233			
4	3		5.0433			
2	3			5.2967		
3	3				5.4167	
7	3					6.1000
Sig.		.234	.602	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ANOVA

TBARS วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	52.527	6	8.754	791.408	.000
Within Groups	.155	14	.011		
Total	52.682	20			

TBARS วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05					
treatment	N	1	2	3	4	5	6
6	3	5.9200					
5	3		6.1500				
1	3		6.2333				
4	3			6.6467			
2	3				7.7200		
3	3					9.1833	
7	3						10.3267
Sig.		1.000	.348	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค 1.9 จุลินทรีย์ทั้งหมด

ANOVA

จุลินทรีย์ทั้งหมด วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.354	6	.059	19.690	.000
Within Groups	.021	7	.003		
Total	.375	13			

จุลินทรีย์ทั้งหมด วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
treatment	N	1	2
1	2	1.9200	
6	2	2.0100	
3	2	2.0450	
5	2		2.2200
2	2		2.3150
7	2		2.3250
4	2		2.3300
Sig.		.064	.099

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

จุลินทรีย์ทั้งหมด วันที่ 7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.938	6	.156	405.525	.000
Within Groups	.003	7	.000		
Total	.941	13			

จุลินทรีย์ทั้งหมด วันที่ 7

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
5	2	2.1150			
6	2		2.4100		
1	2		2.4200		
3	2		2.4300		
2	2			2.6200	
4	2			2.6200	
7	2				3.0250
Sig.		1.000	.359	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

จุลินทรีย์ทั้งหมด วันที่ 14

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.694	6	.782	2106.321	.000
Within Groups	.003	7	.000		
Total	4.697	13			

จุลินทรีย์ทั้งหมด วันที่ 14

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
3	2	2.6200			
5	2	2.6200			
6	2	2.6250			
1	2	2.6300			
2	2		2.7150		
4	2			2.8250	
7	2				4.3150
Sig.		.636	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

จุลินทรีย์ทั้งหมด วันที่ 21

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.563	6	1.427	861.256	.000
Within Groups	.012	7	.002		
Total	8.575	13			

จุลินทรีย์ทั้งหมด วันที่ 21

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
treatment	N	1	2	3	4	5
3	2	2.7300				
1	2	2.8250	2.8250			
6	2		2.8350			
5	2		2.9250	2.9250		
2	2			2.9400		
4	2				3.2150	
7	2					5.1100
Sig.		.052	.050	.723	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

จุลินทรีย์ทั้งหมด วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.498	6	1.083	273.195	.000
Within Groups	.028	7	.004		
Total	6.526	13			

จุลินทรีย์ทั้งหมด วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
treatment	N	1	2	3	4	5
1	2	3.0400				
6	2	3.1550				
3	2		3.4050			
5	2		3.4300			
2	2			3.7450		
4	2				3.9100	
7	2					5.2200
Sig.		.111	.703	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ค 2.0 ยีสต์ และรา

ANOVA

ยีสต์และรา วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15.937	6	2.656	92964.000	.000
Within Groups	.000	7	.000		
Total	15.937	13			

ยีสต์และรา วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
treatment	N	1	2	3
1.00	2	.0000		
3.00	2	.0000		
5.00	2	.0000		
6.00	2	.0000		
2.00	2		2.0000	
4.00	2		2.0000	
7.00	2			2.4200
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

ยีสต์ และรา วันที่ 7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17.664	6	2.944	22898.278	.000
Within Groups	.001	7	.000		
Total	17.665	13			

ยีสต์ และรา วันที่ 7

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
1.00	2	.0000			
5.00	2	.0000			
6.00	2	.0000			
2.00	2		2.0000		
3.00	2		2.0000		
4.00	2			2.3150	
7.00	2				2.6250
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

ยีสต์ และรา วันที่ 14

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.303	6	.550	3350.435	.000
Within Groups	.001	7	.000		
Total	3.304	13			

ยีสต์ และรา วันที่ 14

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
treatment	N	1	2	3	4	5
1.00	2	2.0000				
5.00	2	2.0000				
6.00	2	2.0000				
2.00	2		2.3100			
3.00	2			2.5350		
4.00	2				2.7150	
7.00	2					3.4250
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

ยีสต์ และรา วันที่ 21

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14.302	6	2.384	1073.044	.000
Within Groups	.016	7	.002		
Total	14.318	13			

ยีสต์ และรา วันที่ 21

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05					
treatment	N	1	2	3	4	5	6
1.00	2	2.1550					
6.00	2		2.3300				
5.00	2		2.4300				
3.00	2			2.6050			
2.00	2				2.8400		
4.00	2					3.3150	
7.00	2						5.3200
Sig.		1.000	.072	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ANOVA

ยีสต์ และรา วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	25.596	6	4.266	3619.606	.000
Within Groups	.008	7	.001		
Total	25.604	13			

ยีสต์ และรา วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05						
treatment	N	1	2	3	4	5	6	7
6.00	2	2.7250						
1.00	2		2.9350					
5.00	2			3.0750				
3.00	2				3.2350			
2.00	2					5.1400		
4.00	2						5.2750	
7.00	2							6.4000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ค 2.1 สี

ANOVA

ความชอบด้านสี วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	59.657	6	9.943	5.030	.000
Within Groups	193.733	98	1.977		
Total	253.390	104			

ความชอบด้านสี วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
3	15	5.8667			
4	15	6.3333	6.3333		
7	15	6.5333	6.5333	6.5333	
2	15	6.6000	6.6000	6.6000	
1	15		7.3333	7.3333	7.3333
6	15			7.6000	7.6000
5	15				8.2000
Sig.		.198	.078	.059	.114

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ANOVA

ความชอบด้านสี วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	86.114	6	14.352	11.093	.000
Within Groups	126.800	98	1.294		
Total	212.914	104			

ความชอบด้านสี วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
treatment	N	1	2	3	4	5
7	15	5.1333				
4	15		6.2000			
3	15		6.5333	6.5333		
2	15		7.0667	7.0667	7.0667	
1	15			7.1333	7.1333	
5	15				7.6667	7.6667
6	15					8.0667
Sig.		1.000	.050	.177	.177	.338

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ค 2.2 เนื้อสัมผัส

ANOVA

เนื้อสัมผัส วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22.300	6	3.717	1.529	.177
Within Groups	238.233	98	2.431		
Total	260.533	104			

เนื้อสัมผัส วันที่ 0

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
2	15	5.8000
7	15	6.0667
3	15	6.1333
4	15	6.2000
1	15	6.8667
5	15	6.9000
6	15	7.0667
Sig.		.056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ANOVA

เนื้อสัมผัส วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47.924	6	7.987	4.411	.001
Within Groups	177.467	98	1.811		
Total	225.390	104			

เนื้อสัมผัส วันที่ 28

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7	15	5.6667		
3	15	6.5333	6.5333	
4	15		7.2000	7.2000
5	15		7.4000	7.4000
1	15		7.4667	7.4667
2	15		7.5333	7.5333
6	15			7.7333
Sig.		.081	.072	.343

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ค 2.3ความแน่นเนื้อ

ANOVA

ความแน่นเนื้อ วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.214	6	1.202	.584	.742
Within Groups	201.633	98	2.057		
Total	208.848	104			

ความแน่นเนื้อ วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05
treatment	N	1
4	15	6.2667
3	15	6.4667
1	15	6.5333
2	15	6.5333
7	15	6.5333
5	15	6.7333
6	15	7.1667
Sig.		.144

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ANOVA

ความแน่นเนื้อ วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	53.448	6	8.908	5.804	.000
Within Groups	150.400	98	1.535		
Total	203.848	104			

ความแน่นเนื้อ วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
treatment	N	1	2	3
7	15	5.6667		
3	15	6.5333	6.5333	
4	15		7.2667	7.2667
5	15		7.2667	7.2667
1	15		7.4667	7.4667
2	15			7.5333
6	15			8.0000
Sig.		.058	.061	.154

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ค 2.4 ความชุ่มฉ่ำ

ANOVA

ความชุ่มฉ่ำ วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.895	6	1.816	.812	.563
Within Groups	219.067	98	2.235		
Total	229.962	104			

ความชุ่มฉ่ำ วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05
treatment	N	1
2	15	5.8000
4	15	6.5333
6	15	6.5333
1	15	6.7333
3	15	6.7333
5	15	6.7333
7	15	6.8000
Sig.		.118

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ANOVA

ความชุ่มฉ่ำ วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47.524	6	7.921	6.699	.000
Within Groups	115.867	98	1.182		
Total	163.390	104			

ความชุ่มฉ่ำ วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
treatment	N	1	2	3
7	15	6.0667		
2	15	6.4000	6.4000	
3	15	6.6667	6.6667	
4	15		7.0667	7.0667
6	15			7.6000
1	15			7.8667
5	15			7.8667
Sig.		.157	.116	.068

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ค 2.5 ความสม่ำเสมอของสี

ANOVA

ความสม่ำเสมอ วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.762	6	.460	.261	.954
Within Groups	172.800	98	1.763		
Total	175.562	104			

ความสม่ำเสมอ วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05
treatment	N	1
3	15	6.7333
4	15	6.7333
6	15	6.7333
7	15	6.7333
2	15	6.8667
5	15	6.9333
1	15	7.2000
Sig.		.417

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ANOVA

ความสม่ำเสมอ วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26.114	6	4.352	3.543	.003
Within Groups	120.400	98	1.229		
Total	146.514	104			

ความสม่ำเสมอ วันที่ 28

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
7	15	6.2000	
4	15	7.0000	7.0000
2	15		7.2000
1	15		7.2667
3	15		7.4000
5	15		7.6667
6	15		7.8667
Sig.		.051	.062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ค 2.7 กลิ่นรส

ANOVA

กลิ่นรส วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.324	6	1.721	.583	.743
Within Groups	289.067	98	2.950		
Total	299.390	104			

กลิ่นรส วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05
treatment	N	1
7	15	6.3333
4	15	6.5333
2	15	6.8667
3	15	6.9333
5	15	7.0000
1	15	7.2000
6	15	7.2667
Sig.		.207

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ANOVA

กลิ่นรส วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	56.895	6	9.483	7.831	.000
Within Groups	118.667	98	1.211		
Total	175.562	104			

กลิ่นรส วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
7	15	5.5333			
3	15	6.2000	6.2000		
2	15		6.4000	6.4000	
4	15			7.0667	7.0667
1	15				7.3333
6	15				7.4667
5	15				7.7333
Sig.		.100	.620	.100	.134

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ค 2.8 การยอมรับโดยรวม

ANOVA

วันที่ 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.995	6	2.166	1.221	.302
Within Groups	173.767	98	1.773		
Total	186.762	104			

ค่าการยอมรับโดยรวม วันที่ 0

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05
treatment	N	1
4	15	6.5667
7	15	6.6000
2	15	7.1333
3	15	7.3333
6	15	7.3333
5	15	7.4000
1	15	7.4667
Sig.		.114

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ANOVA

การยอมรับโดยรวม วันที่ 28

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61.867	6	10.311	15.157	.000
Within Groups	66.667	98	.680		
Total	128.533	104			

การยอรับโดยรวม วันที่ 28

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2	3	4
7	15	5.3333			
3	15		6.4667		
4	15		6.9333	6.9333	
2	15		7.0667	7.0667	
1	15			7.4000	7.4000
5	15			7.5333	7.5333
6	15				7.8000
Sig.		1.000	.062	.071	.215

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - นามสกุล	นางสาวกมลวรรณ ตันโสภณ
วัน เดือน ปีเกิด	24 มกราคม 2526
ที่อยู่	53 หมู่1 ต.งิ้วงาม อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2549 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตรสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
งานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์	กมลวรรณ ตันโสภณ และ ดวงใจ โอชัยกุล. 2554 “ การผลิตสารสีของเชื้อรา *Monascus purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็ง” **การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49.** กรุงเทพฯ